



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**CARACTERIZAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE
MANGABA (*Hancornia speciosa* GOMES)**

VALDINETE VIEIRA NUNES

2018



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

VALDINETE VIEIRA NUNES

**CARACTERIZAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE MANGABA
(*Hancornia speciosa* GOMES)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientadora
Prof^a. Dr^a. Renata Silva-Mann

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE - BRASIL
2018

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

N972c Nunes, Valdinete Vieira
Caracterização e conservação de sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* GOMES) / Valdinete Vieira Nunes; orientadora Renata Silva-Mann. – São Cristóvão, 2018.
81 f.: il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Mangaba. 2. Sementes - Conservação. 3. Diversidade biológica. I. Silva-Mann, Renata, orient. II. Título.

CDU 634.6

VALDINETE VIEIRA NUNES

CARACTERIZAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE MANGABA
(*Hancornia speciosa* GOMES)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 02 de fevereiro de 2018.

Prof^ª. Dr^ª. Andréa dos Santos Oliveira
UNEMAT

Prof^ª. Dr^ª. Marília Freitas de Vasconcelos Melo
UFAL



Prof^ª. Dr^ª. Renata Silva-Mann
UFS
(Orientadora)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE - BRASIL

AGRADECIMENTOS

Uma das mais belas lições da vida é que não somos autossuficientes, e para cada objetivo alcançado, haverá sempre a quem agradecer!

Agradeço a DEUS, energia maior que rege todo o universo e minha fonte de força para superar todas as barreiras que pareciam intransponíveis.

À Universidade Federal de Sergipe por oportunizar esta caminhada enriquecedora.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade e a todos os seus docentes pela dedicação e conhecimentos compartilhados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida e ao Conselho Nacional Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo incentivo ao conhecimento científico e à pesquisa.

À Prof^{ra}. Dr^a. Renata Silva-Mann pela orientação neste trabalho, experiência compartilhada e pelo grande exemplo de profissional.

Às professoras Dr^a. Andréa dos Santos Oliveira e Marília Freitas de Vasconcelos Melo pelas valiosas contribuições.

À Empresa Pomar, ao Sr. Wilson Menezes Aragão e a sua esposa Glícia de Carvalho Aragão por toda a atenção e boa vontade em contribuir com esse trabalho.

As catadoras de mangaba de Sergipe, em especial às do Povoado Baixa Grande, Pirambu, pelo acolhimento e receptividade.

A todos os colegas do GENAPLANT que contribuíram gentilmente para a realização deste estudo: as pós-doutorandas Michelle Vasconcelos e Sheila Valéria, os doutorandos Daniel Ornelas, Juliana Lopes, Erica Moraes e Olavo José, os mestrandos Airan Miguel, Allana Mellyse e Fernanda Torres, aos estudantes de iniciação científica Laura Catharine, Saulo de Jesus, Airton Marques, Lucas Alexandre, Igor Sabino, Lenise Maria e Larissa Gomes.

Aos técnicos Laboratoristas Idamar da Silva, Kairon Rocha, Luciana Oliva e Lilian Café.

Aos amigos Lucas Barbosa, Jéssica Monalisa e Sara Dayan, por compartilharem os desafios e alegrias durante o mestrado. E as amigas irmãs, Vivianne Andrade, Ianara Rita e Leila Floresta que mesmo distantes emanam muito amor.

A todos da minha família, por acreditarem e apoiarem a minha constante busca por um futuro melhor, em especial a minha irmã Alexandra Vieira e ao meu cunhado Afonso Cesar.

Ao meu grande amor e companheiro Sérgio Luís, pelo incentivo, paciência e carinho durante essa importante jornada.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Caracterização da espécie	3
2.2 Perda da biodiversidade	6
2.3 Caracterização da biodiversidade	8
2.4 Conservação da biodiversidade	9
2.5 Métodos de conservação de sementes	10
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
4. ARTIGO 1: DIVERSIDADE MORFOGENÉTICA DE MATRIZES DE MANGABEIRA EM POPULAÇÃO NATURAL	21
Resumo	21
Abstract	22
4.1 Introdução	23
4.2 Material e Métodos	23
4.2.1 Material Vegetal	23
4.2.2 Caracterização dos frutos	24
4.2.3 Caracterização molecular via marcadores ISSR	25
4.3 Resultados e Discussão	26
4.3.1 Caracterização dos frutos	26
4.3.2 Caracterização molecular via marcadores ISSR	29
4.4 Conclusões	33
4.5 Referências Bibliográficas	34
5. ARTIGO 2: INTEGRIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MANGABA OBTIDAS POR DIFERENTES MÉTODOS DE BENEFICIAMENTO .	38
Resumo	38
Abstract	39
5.1. Introdução	40
5.2. Material e Métodos	40
5.3. Resultados e Discussão	42
5.4. Conclusões	46
5.5. Referências Bibliográficas	47
6. ARTIGO 3: VIABILIDADE DE SEMENTES DE <i>Hancornia speciosa</i> GOMES ARMAZENADAS EM DIFERENTES SOLUÇÕES OSMOCONDICIONANTES	51
Resumo	51
Abstract	52
6.1 Introdução	53
6.2 Material e Métodos	53
6.2.1 Determinação do teor de água	54
6.2.2 Condutividade elétrica	54
6.2.3 Raios X	54
6.2.4 Germinação	54
6.2.5 Comprimento de plântulas	54
6.2.6 Massa seca de plântulas	54
6.2.7 Extração de RNA e avaliação da qualidade do RNA.....	55
6.2.8 Delineamento e análise estatística	55

6.3 Resultados e Discussão	55
6.3.1 Qualidade inicial	55
6.3.2 Armazenamento.....	56
6.3.3 Qualidade e integridade do RNA	61
6.4 Conclusões	62
6.5 Referências Bibliográficas	63
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	66

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
2.1	Distribuição da espécie <i>Hancornia speciosa</i> no Brasil.	4

ARTIGO 1: DIVERSIDADE MORFOGENÉTICA DE MATRIZES DE MANGABEIRA EM POPULAÇÃO NATURAL

Figura		Página
4.1	Distribuição espacial das matrizes de mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) em população natural do Povoado Baixa Grande, Pirambu, SE. Google Earth, 2018.	24
4.2	Fruto da mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) (A) e ilustração da biometria por meio dos diâmetros longitudinal e transversal (B).	24
4.3	Estimativa do estresse (E) e correlação (r) para o número de fragmentos polimórficos, obtida com 17 <i>primers</i> ISSR para estudo da diversidade genética de matrizes de mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) em população natural no estado de Sergipe.	29
4.4	Dendrograma gerado pelo método UPGMA, baseado na similaridade de Jaccard, para 14 matrizes de mangabeira, obtido a partir de 17 <i>primers</i> ISSR.	31
4.5	Análise de Coordenadas Principais (ACoP) para 14 matrizes de mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i>) de população natural de Sergipe.	31

ARTIGO 2: INTEGRIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MANGABA OBTIDAS POR DIFERENTES MÉTODOS DE BENEFICIAMENTO

Figura		Página
5.1	Imagem radiográfica de semente classificada como cheia (A), gráfico tridimensional (B), plântula normal (C), semente com dano (D), gráfico tridimensional (E) e plântula anormal (F) de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes).	43
5.2	Percentual de plântulas normais na germinação e sementes cheias identificadas pelos raios X para sementes de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) obtidas do beneficiamento manual e mecânico.	44
5.3	Densidade média de pixels para sementes mortas (SM), duras (Du), plântulas anormais (PA) e plântulas normais (PN) de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) obtidas do beneficiamento manual e mecânico.	44

ARTIGO 3: VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Hancornia speciosa* GOMES ARMAZENADAS EM DIFERENTES SOLUÇÕES OSMOCONDICIONANTES

Figura		Página
6.1	Radiografia de semente cheia (A), imagem 3D (B); plântula normal (C), radiografia de semente com dano (D), semente deteriorada (E) e imagem 3D (F) de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes).	56
6.2	Germinação de sementes de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i>) armazenadas por diferentes períodos.	57
6.3	Comprimento da raiz (CR) e massa seca das sementes armazenadas em diferentes soluções osmocondicionantes e períodos de tempo.	59
6.4	Condutividade elétrica das sementes armazenadas em diferentes soluções osmocondicionantes e períodos de tempo.	60
6.5	Concentração do RNA de sementes de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes antes do armazenamento (QI) e quando armazenadas em diferentes soluções osmocondicionantes (A, B, C e D) e períodos (50, 100, 150 e 200 dias).	61
6.6	Qualidade do RNA de sementes de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes antes do armazenamento (QI) e quando armazenadas em diferentes soluções osmocondicionantes (A, B, C e D) e períodos (50, 100, 150 e 200 dias).	61
6.7	Gel de integridade do RNA de sementes de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes antes do armazenamento (QI) e quando armazenadas em diferentes soluções osmocondicionantes (A, B, C e D) por 50 dias.	62

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
2.1	<i>Hancornia speciosa</i> características botânicas.	3
2.2	Produção de frutos de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) em toneladas dos últimos 10 anos no Brasil.	5

ARTIGO 1: DIVERSIDADE MORFOGENÉTICA DE MATRIZES DE MANGABEIRA EM POPULAÇÃO NATURAL

Tabela		Página
4.1	<i>Primers</i> ISSR usados para o estudo de diversidade das matrizes de mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) e suas respectivas sequências e temperatura de anelamento.	25
4.2	TABELA 4.3.1.1 Características físicas de frutos obtidos em matrizes de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes.	26
4.3	Biometria de frutos obtidos em matrizes de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes por meio do Número de Frutos (NF), Rendimento (REND), Diâmetro Longitudinal (DL), Diâmetro Transversal (DT), Massa de polpa (MP), Massa de Sementes (MS) e Número de Sementes (NS).	27
4.4	Correlação de Spearman (rS) para as variáveis Número de frutos (NF), Rendimento (REND), Produção estimada (PROD), Diâmetro Longitudinal (DL), Diâmetro Transversal (DT), Massa de polpa (MP), Massa de Sementes (MS) e Número de Sementes (NS) para matrizes de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes.	28
4.5	Similaridade genética (%) para as 14 matrizes de mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) baseada no coeficiente de Jaccard, obtido a partir de 17 primers ISSR.	30

ARTIGO 2: INTEGRIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MANGABA OBTIDAS POR DIFERENTES MÉTODOS DE BENEFICIAMENTO

Tabela		Página
5.1	Biometria de sementes de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) obtidas da despolpa mecânica.	42
5.2	Resumo da Análise de Variância (ANAVA) para a avaliação de sementes de mangaba obtidas da despolpa manual e mecânica.	42
5.3	Média e <i>p-valor</i> (teste t de Student) para comparação dos resultados obtidos em função do beneficiamento manual e mecânico para as variáveis germinação (%G), primeira contagem (PG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca de plântulas (MSP) e condutividade elétrica (CE) para sementes de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i>	45

Gomes).

ARTIGO 3: VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Hancornia speciosa* GOMES ARMAZENADAS EM DIFERENTES SOLUÇÕES OSMOCONDICIONANTES

Tabela		Página
6.1	Resumo da Análise de Variância (ANAVA) para a avaliação do teor de água (TA), condutividade elétrica (CE), germinação (%G), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca de plântulas (MSP) de sementes de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) armazenadas por diferentes períodos em soluções osmocondicionantes.	56
6.2	Desdobramento da solução dentro dos diferentes períodos de armazenamento para as variáveis comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR) e massa seca de plântulas (MSP).	58
6.3	Desdobramento da solução dentro dos diferentes períodos de armazenamento para a condutividade elétrica (CE).	59

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%G	Porcentagem de Germinação
°C	Celsius
ACoP	Análise de Coordenadas Principais
ANAVA	Análise de variância
B.O.D	Demanda Bioquímica de Oxigênio - <i>Biochemical oxygen demand</i>
BAG	Banco Ativo de Germoplasma
CE	Condutividade elétrica
CPA	Comprimento da parte aérea
CR	Comprimento da raiz
CV	Coefficiente de variação
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DL	Diâmetro longitudinal
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DT	Diâmetro transversal
Du	Semente dura
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético - <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
FAO	Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação - <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
g	Grama
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Kv	Quilovolts
MP	Massa da polpa
MPa	Mega Pascal
MS	Massa de sementes
MSP	Massa seca de plântulas
na	Alelos observados
ne	Alelos efetivos
NS	Número de sementes
PA	Plântula anormal
PC	Primeira contagem
PCR	Reação em cadeia da polimerase - <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PN	Plântula normal
PROD	Produção estimada
QI	Qualidade inicial
RAPD	<i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>
RAS	Regra para Análise de Sementes
REND	Rendimento
RNA	Ácido ribonucléico
SE	Sergipe
SM	Semente morta
TA	Teor de água
UFS	Universidade Federal de Sergipe
UPGMA	<i>Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average</i> - Agrupamento aos Pares pela Média Aritmética Não Ponderada
UV	Radiação ultravioleta

RESUMO

NUNES, Valdinete Vieira. **Caracterização e conservação de sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. São Cristóvão: UFS, 2018. 81 p. (Dissertação - Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).*

A caracterização e a conservação de recursos genéticos são ações importantes para a espécie *Hancornia speciosa* Gomes, conhecida como mangabeira, principalmente considerando a erosão genética que vem ocorrendo devido à ação antrópica. Assim, objetivou-se estudar a diversidade morfogênética, a possibilidade de uso de sementes obtidas por diferentes métodos de beneficiamento para obtenção de mudas e o armazenamento de sementes, visando contribuir para a conservação da espécie. Para tanto, foram empregadas análises de marcadores moleculares ISSR, visando à caracterização da diversidade de uma população de mangabeiras, bem como associar a biometria de frutos (diâmetros longitudinal e transversal, massa da polpa, massa de sementes e o número de sementes). Adicionalmente se avaliou a integridade física e fisiológica de sementes obtidas do beneficiamento manual e mecânico, empregando as análises teor de água, biometria, peso de mil sementes, teste de raios X, germinação, primeira contagem, condutividade elétrica, comprimento e massa seca de plântulas. Para o armazenamento, avaliou-se periodicamente a viabilidade e o vigor de sementes armazenadas em 4 diferentes soluções osmocondicionantes (A, B, C e D) sob condições controladas, por meio da germinação, condutividade elétrica, teor de água e qualidade e integridade do RNA. Para a diversidade genética, observou-se que 60,44% dos locos obtidos eram polimórficos, o que permitiu a identificação de 55,29% de similaridade para as matrizes, o nível de heterozigosidade foi 0,40 e o índice de Shannon 0,58. Foram observados altos níveis de variação para biometria e massa da polpa e sementes. Sementes obtidas pelo beneficiamento manual e mecânico não diferiram para o teor de água, germinação, primeira contagem e comprimento de plântulas. Porém, diferiram para a condutividade elétrica e massa seca de plântulas. Nas imagens radiográficas observou-se maior densidade para as sementes beneficiadas manualmente. Para sementes armazenadas, houve relação positiva entre o período de armazenamento e condutividade elétrica. Nos crescentes períodos de armazenamento ocorre redução da viabilidade e vigor das sementes, independente da solução utilizada, entretanto, sementes armazenadas na solução B mantiveram a qualidade e integridade do RNA. Por meio das avaliações morfogênicas conclui-se que na população analisada há potencial para prospecção de diversidade e utilização de indivíduos em trabalhos futuros de seleção. Os métodos de beneficiamento não interferem na integridade física e fisiológica das sementes. Sementes de *H. speciosa* podem ser conservadas em soluções osmocondicionantes por até 50 dias e a solução B foi eficiente na manutenção da qualidade e integridade do RNA.

Palavras-chave: Integridade de RNA, osmoconservação, raios X, recalcitrância.

* Comitê Orientador: Renata Silva-Mann – UFS (Orientadora).

ABSTRACT

NUNES, Valdinete Vieira. **Characterization and conservation of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) seeds.** São Cristóvão: UFS, 2018. 81 p. (Thesis - Master of Science in Agriculture and Biodiversity).*

The characterization and the conservation of genetic resources are important actions for the *Hancornia speciosa* Gomes species, which is often referred to as mangabeira. This is especially true when mainly considering the genetic erosion that has reached the species due to anthropical actions. The objective of this study was to examine its morphogenetic diversity. The research was conducted by gathering its seeds that were collected from different processing methods, so as to obtain its seedlings. This resulted in the storage of its seeds, whilst at the same time, aiming at contributing to the conservation of the species. For this purpose, ISSR molecular marker analyzes were used in order to characterize the diversity of the mangabeira's population, as well as to associate the fruit's biometrics (longitudinal and transverse diameters, pulp mass, seed mass and the number of seeds). In addition, the physical and physiological integrity of the seeds that were obtained from the manual and mechanical processing were evaluated by using water content analyzes, biometrics, the weight of a thousand seeds, X-ray tests, their germination, their first counting, their electrical conductivity, together with the seedling's length and the dry mass of the seedlings. For storage, the viability and the vigor of the seeds that were stored in 4 different osmoconditioning solutions (A, B, C and D) were evaluated periodically under controlled conditions, through their germination, their electrical conductivity, their water content, their RNA quality and their integrity. For their genetic diversity, it was observed that 60.44% of the loci obtained were polymorphic, which allowed for the identification of a 55.29% similarity of the matrices. Their level of heterozygosity was 0.40 and their Shannon index was 0.58. High levels of variation were observed for their biometry, their pulp and their seed mass. The seeds that were obtained by manual and mechanical processing did not differ for their water content, their germination, their first counting, or for the length of their seedlings. However, they differed for their electrical conductivity and the dry mass of their seedlings. In the radiographic images, a higher density was observed for the manually depulped seeds. For the stored seeds, there was a positive relationship between the storage period and their electrical conductivity. For the increasing storage periods, the seed's viability and vigor decreased, regardless of the solution used. However, the seeds that were stored in solution B maintained their quality and their integrity of the RNA. Through the morphogenetic evaluations, it was concluded that in the analyzed population, there was a potential for the prospect of diversity and for the use of individuals in future selection works. The beneficiation methods did not interfere in the physical and physiological integrity of the seeds. The seeds of *H. speciosa* Gomes were able to be preserved in osmoconditioning solutions for up to 50 days and solution B was efficient in maintaining their quality and their integrity of the RNA.

Keywords: RNA integrity, osmo-conservation, X-rays, recalcitrance.

* Advisory Committee: Renata Silva-Mann – UFS (Advisor).

1. INTRODUÇÃO GERAL

As florestas são fundamentais para a existência dos seres humanos, pois são responsáveis pela purificação do ar, funcionam como um reservatório de água pura, nutrem continuamente o solo, além de fornecerem inúmeras matérias primas (UMARANI; AADHAVAN; FAISAL, 2015). Entretanto, vem ocorrendo significativa redução dessas áreas, devido à ação antrópica, e, conseqüentemente, estão sendo perdidos valiosos recursos genéticos antes mesmo que estes sejam identificados, caracterizados e que ocorra o aproveitamento adequado das suas potencialidades.

Quando se trata de espécies florestais nativas, normalmente estão localizadas em áreas fragmentadas, apresentam redução do tamanho efetivo da população e sérios problemas de endogamia, os quais causam efeitos deletérios na sobrevivência e vigor das espécies, sendo eminente a necessidade de conservá-las (REIS et al., 2009; MMA, 2003).

Esta situação pode ser observada para *Hancornia speciosa* Gomes (mangabeira), devido à redução de áreas de ocorrência natural da espécie seja pela fragmentação florestal, expansão imobiliária, turismo e/ou aumento das áreas cultivadas.

A conservação de populações de espécies nativas depende de uma política adequada de proteção ambiental, resgate e conservação dos recursos genéticos, além do desenvolvimento de métodos adequados para a propagação das diferentes espécies de interesse, visando sua conservação *in situ*, *ex situ* e reflorestamento de áreas degradadas (RIBEIRO; SILVA, 1996). Diante disto, o armazenamento de sementes torna-se indispensável para assegurar o fornecimento contínuo de mudas, que é um pré-requisito para o sucesso de qualquer programa de reflorestamento, especialmente quando as espécies estão ameaçadas pela fragmentação de suas áreas de ocorrência ou por catástrofes como fogo florestal, seca e inundações (UMARANI; AADHAVAN; FAISAL, 2015).

Para espécies com sementes ortodoxas, a conservação pode ser realizada em câmaras frias. No entanto, para espécies que apresentam sementes recalcitrantes, como a mangabeira, o desafio se amplia, pois não toleram a dessecação e conservação em condições de baixas temperaturas; além disso, não podem ser criopreservadas sem que ocorra a formação de cristais de gelo nas células (FARRANT; WALTERS, 1998; PRITCHARD et al., 2004). Portanto, são necessários ajustes metodológicos visando à manutenção da viabilidade das sementes durante o armazenamento. Para obtenção de sucesso é necessário considerar três fatores principais que influenciam nos danos que ocorrem durante armazenamento: o teor de água, a taxa de secagem e a temperatura das sementes, além da presença de microrganismos, que é favorecido pelas condições de alta umidade (UMARANI; AADHAVAN; FAISAL, 2015).

Em estudos recentes visando à manutenção da viabilidade de sementes recalcitrantes durante o armazenamento, verificou-se que sementes de araucária (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) mantiveram 64% de germinação quando armazenadas por 180 dias sob temperatura próxima de 5 °C (GARCIA et al., 2014) e 50% de emergência aos 12 meses quando tratadas com hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,5 e 1% (HENNIPMAN et al., 2017). Sementes de seringueira (*Hevea brasiliensis*) foram armazenadas em PEG 6000 a 30% com germinação de 99,67% após 16 dias de armazenamento (CHARLOQ et al., 2016). E para sementes de pitangueira (*Talisia esculenta* (A. St. Hil.) Radlk) o armazenamento em câmara ou em temperatura ambiente, embaladas em saco de polietileno mantém a viabilidade por até 25 dias (SENA et al., 2016).

Percebe-se que o potencial das sementes recalcitrantes para o armazenamento apresenta uma grande variação entre as espécies, adicionalmente, estudos visando o desenvolvimento de metodologias que permitam a conservação destas sementes são incipientes.

Diante das diversas limitações, sejam devido a estudos incipientes, características específicas das espécies ou falta de recursos e do estabelecimento de metodologias, a

conservação dos recursos genéticos é um grande desafio. Portanto, como alternativa para estudar a variabilidade das populações naturais e fornecer informações que subsidiem medidas mitigadoras, visando à conservação da espécie, é imprescindível a caracterização morfogênética, a obtenção de fontes de propágulos viáveis, a manutenção da viabilidade e a conservação de sementes.

Assim, objetivou-se avaliar a diversidade morfogênética de matrizes de mangabeira em populações naturais, a possibilidade de uso de sementes da indústria de polpas de frutas para obtenção de mudas e o armazenamento de sementes, visando contribuir para a conservação da espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Caracterização da espécie

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma árvore frutífera que pertence à classe Dicotyledoneae, ordem Gentianales, família Apocynaceae e ao gênero monotípico *Hancornia*. Apresenta seis variedades botânicas, a *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *maximiliani*, *H. speciosa* var. *cuyabensis*, *H. speciosa* var. *lundii*, *H. speciosa* var. *gardnerie*, *H. speciosa* var. *pubescens*, que se diferenciam principalmente pelo tipo de flor, folha e fruto (MONACHINO, 1945).

H. speciosa é espécie nativa do Brasil com grande potencial frutífero e farmacológico e características botânicas que as diferencia de várias outras espécies (TABELA 2.1). Faz parte da lista de espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial, na categoria de alimentícias (PEREIRA et al., 2016).

TABELA 2.1 *Hancornia speciosa* características botânicas.

Características	<i>Hancornia speciosa</i>	Referência
Altura	Árvore de porte médio, de 2 m a 10 m de altura podendo chegar raramente até 15 m.	Lederman, 2000.
Flor	Uma a sete flores hermafroditas, ocasionalmente, flores isoladas. Perfumadas e brancas, forma de campânula alongada (tubular). Inflorescência do tipo dicásio, tubo floral longo e estreito, anteras na região apical não fundidas, deiscência introrsa, o pólen é liberado no ápice da cabeça estigmática antes da antese, formando uma câmara.	Monachino, 1945; Almeida et al., 1998; Darraut; Schlindwein, 2005; Ganga et al., 2010.
Fruto	Tipo baga, elipsoidal ou arredondado, 2,5 a 6,0 cm, exocarpo amarelo com manchas ou estrias avermelhadas, a polpa tem sabor suave, doce, carnosos-viscosa, ácida, com aroma muito agradável.	Monachino, 1945; Soares et al., 2008.
Semente	2 a 15 ou até 30 sementes discóides de 7- 8 mm de diâmetro, castanho-claras, delgadas, rugosas, com hilo no centro. Peso de 100 sementes com aproximadamente, 50% de umidade é $18,5 \pm 0,8$ g.	Monachino, 1945;
Caule	Rugoso e áspero, com duas a três bifurcações na altura média de 40 cm a 50 cm da base.	Lederman, 2000.
Copa	Ampla, às vezes mais larga que alta, galhos pendentes, abundantes, com folhagens reduzidas. Ramos inclinados, numerosos, separados e bem formados, com córtice levemente suberoso. Ramos jovens são lisos e de coloração violácea até um ano de idade, meio angulosos, curtos, com poucas folhas, floríferos no ápice.	Lederman, 2000.
Folha	Decíduas, opostas, simples, glabras nas duas páginas, brilhantes e coriáceas, de formato elíptico, limbo foliar até 6 cm e 2 cm de largura, pedicelos glabros, pecíolo de 9 a 15 mm, axilar, fino, glabro, biglanduloso.	Monachino, 1945; Lederman, 2000. Ferreira; Marinho, 2007.

Tipo de Reprodução	Sexual; alógama (polinização cruzada), autoincompatível, necessitando da participação de indivíduos diferentes e de polinizadores específicos para que ocorra a fecundação e a produção de frutos.	Darrault; Schlindwein, 2005, 2006; Pereira et al., 2006; Pinto et al., 2008; Moura et al., 2011.
Grupo taxonômicos polinizadores	<i>Sphingidae</i> , <i>Hesperiidae</i> e <i>Nymphalidae</i> (<i>Heliconius</i>).	Darrault; Schlindwein, 2005; Pereira et al., 2006.

Fonte: Autora.

As populações naturais dessa espécie são encontradas em várias regiões do Brasil, ocorrendo nos ecossistemas de tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas do Nordeste, em áreas do Cerrado da Região Centro Oeste e também nas Regiões Norte e Sudeste (VIEIRA NETO et al., 2002) (FIGURA 2.1).

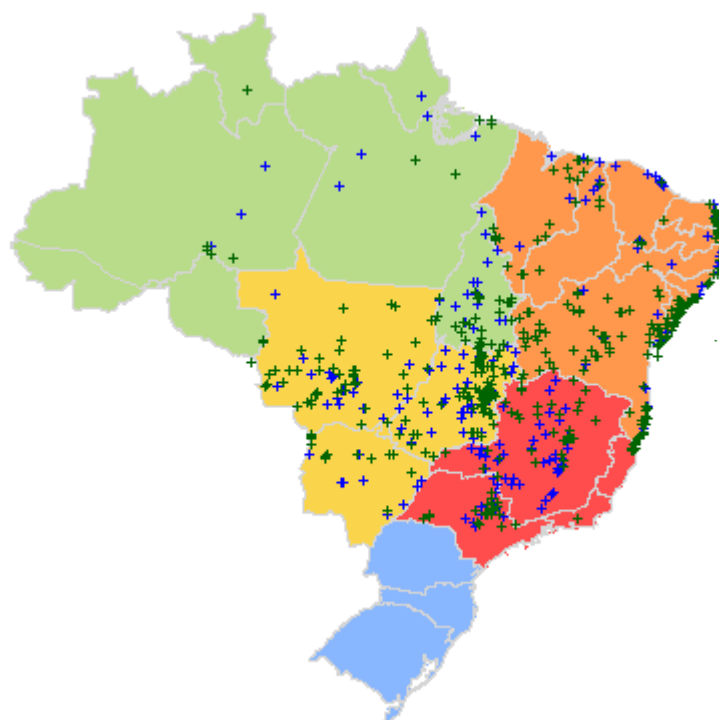


FIGURA 2.1 Distribuição da espécie *Hancornia speciosa* no Brasil.

Fonte: Rede *species* Link (<http://www.splink.org.br>)

Por ser uma planta tropical, é encontrada em áreas com alta insolação e precipitação pluviométrica variando de 750 a 1.600 mm anuais, é típica de solos arenosos, ácidos e pobres em nutrientes e suporta períodos de déficit hídrico, temperaturas elevadas e menor umidade relativa do ar (VIEIRA NETO et al., 2002; FERREIRA; MARINHO, 2007).

A floração e frutificação da mangabeira são influenciadas pela época do ano, local e diferenças entre plantas de uma mesma região (LIMA; SCARIOT, 2010). No Nordeste a floração e frutificação ocorre duas vezes ao ano, no verão (dezembro a abril) e no inverno (maio a julho), no pantanal de Mato Grosso ocorre na estação chuvosa. Em Minas Gerais a floração é de setembro a novembro e a frutificação de dezembro a janeiro. No Mato Grosso do Sul, a floração é de agosto a outubro e a frutificação ocorre o ano inteiro (SILVA JÚNIOR, LÉDO, 2011).

Por ser uma espécie alógama e autoincompatível, o sucesso da fecundação e a produção de frutos são dependentes de visitantes florais, como abelhas e mariposas. Com o

aumento da frequência dos polinizadores têm-se uma maior taxa de frutificação, sementes maiores e mais numerosas (DARRAULT, SCHLINDWEIN, 2006).

Seu fruto, conhecido popularmente por mangaba, é muito apreciado devido às suas características sensoriais, quando maduro apresenta polpa macia, com sabor doce e ácido, é uma rica fonte de vitaminas como A, B1, B2 e C, e nutrientes como o ferro, cálcio e fósforo (MARTINS et al., 2012). A mangaba é regularmente comercializada nas feiras populares e utilizada, principalmente, como matéria-prima para a agroindústria devido ao seu potencial para o desenvolvimento de produtos que podem ser usados na alimentação humana.

A maior produção dos frutos ocorre em estados do Nordeste brasileiro, com destaque para Sergipe e Bahia, no Centro-Oeste, em Goiás e no Sudeste, Minas Gerais, ambos com pequena produção (Tabela 2.2).

TABELA 2.2 Produção de frutos de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em toneladas dos últimos 10 anos no Brasil.

Anos	AL	BA	CE	GO	MA	MG	PB	RN	SE	Brasil
2007	8	172	-	-	1	4	96	55	436	773
2008	8	142	-	-	1	4	99	60	397	711
2009	32	138	0	-	1	4	100	37	386	699
2010	33	142	0	-	1	1	99	44	401	722
2011	34	128	0	-	1	1	79	85	351	680
2012	33	105	0	0	1	1	89	79	367	677
2013	33	100	0	0	1	1	95	81	327	639
2014	34	89	38	5	2	1	93	71	353	685
2015	34	83	7	5	2	1	136	176	219	663
2016	38	106	1	1	2	177	246	162	190	922

Fonte: IBGE, 2017.

Nos dois estados com maior produção, a quantidade de frutos reduziu nos últimos anos, provavelmente devido às dificuldades como a perecibilidade e falta de um sistema de produção bem definido, com técnicas de plantio adequadas, sistema de pós-colheita que amplie a sua comercialização e, conseqüentemente, conquiste maior mercado consumidor (CARNELOSSI et al., 2004; ALVES et al., 2006; IBGE, 2017).

A mangabeira tem grande importância social, econômica e cultural nas áreas onde ocorre (ALMEIDA et al., 1998; LIMA; SCARIOT, 2010), gerando renda especialmente para famílias socialmente vulneráveis (LIMA; SCARIOT; GIROLDO, 2013). No estado de Sergipe as populações naturais de mangabeiras estão divididas em fitofisionomias de restinga (1.813,07 ha), manguezal (23.012 ha), mata (76.124,71 ha) e área natural não florestada (290,74 ha) (JESUS; GAMA; FERNANDES, 2014), nestas áreas ocorre o extrativismo pelas Catadoras de Mangaba, grupo tradicionalmente diferenciado reconhecido pela Lei Estadual nº 288 de 2010.

Esse grupo tradicionalmente diferenciado é formado principalmente por mulheres que atualmente estão organizadas por meio das Associações de Catadoras de Mangaba (ACMs) formadas nos diferentes municípios sergipanos que ocorre a coleta de mangaba e pelo Movimento das Catadoras de Mangaba de Sergipe (MCMS). As Catadoras de Mangaba obtêm sua renda por meio da comercialização dos frutos *in natura* e também processados na forma de geleias, compotas, licores, entre outros. Praticam o extrativismo de outras espécies tais como o cambuí, araçá, manga e caju e a pesca (peixes, mariscos e crustáceos) (MOTA et al., 2011). Cabe destacar que o extrativismo da mangaba encontra-se ameaçado, uma vez que as áreas de ocorrência natural da espécie estão fragmentadas, bem como a restrição do acesso das Catadoras de Mangaba às áreas que antes eram livres, estes entraves podem estar associados ao decréscimo na produção de frutos dos últimos anos, considerando que existem poucos plantios comerciais e a produção de frutos no estado é oriunda do extrativismo.

Embora o fruto seja o principal produto explorado, outros produtos florestais não madeireiros são obtidos da mangabeira com uso principalmente na medicina popular, tais como sua casca que possui propriedades adstringentes e o látex encontrado em todas as partes da planta, empregado no tratamento da tuberculose, úlceras, ações da bactéria *Helicobacter pylori*, herpes, dermatoses e verrugas. Além disso, o chá das folhas é utilizado para o combate à cólica menstrual e o decocto da raiz, para tratar luxações e hipertensão arterial (SOARES et al., 2008).

Em estudos científicos recentes, foi comprovada a eficiência de compostos bioativos encontrados nas folhas da mangabeira no controle efetivo da pressão arterial e diabetes (SILVA et al., 2011; PEREIRA et al., 2015). E que o látex exsudado por toda parte da planta tem ação anti-inflamatória, angiogênese e osteogênica (MARINHO et al., 2011; ALMEIDA et al., 2014; FLORIANO et al., 2016).

A mangabeira pode ser utilizada também na recuperação de áreas degradadas, uma vez que se adapta bem a solos mais pobres, tolera déficit hídrico e elevadas temperaturas, podendo ser empregada no reflorestando áreas com baixa capacidade de uso. Cabe destacar que a espécie por ser decídua, troca a folhagem no período mais seco do ano, formando uma manta que favorece a um acréscimo gradativo de matéria orgânica no solo, melhorando as propriedades químicas, físicas e biológicas nas suas camadas superficiais (MENINO; ARAÚJO; LEITE, 2016; PEREIRA et al., 2016).

Apesar de todas as potencialidades da mangabeira, seus coprodutos são obtidos praticamente por atividades de extrativismo em plantas remanescentes e o volume de frutas disponível no mercado não atende à demanda, impossibilitando o processamento da fruta em grande escala (BESSA et al., 2013; SOARES et al., 2015). Existem poucos plantios comerciais e a propagação é feita praticamente somente por sementes que são recalcitrantes e perdem rapidamente a viabilidade em condição ambiente (BARROS et al., 2010).

Adicionalmente, a espécie encontra-se bastante ameaçada pela redução da área original de sua ocorrência devido à expansão imobiliária e aumento das áreas cultivadas, inclusive sofrendo erosão genética e perda de germoplasma de interesse (SANTOS et al., 2010; SILVA JÚNIOR; LÉDO, 2011). Nesse aspecto, são necessários estudos que possam contribuir para a caracterização da diversidade morfogenética, para difundir o seu cultivo como alternativa viável de produção comercial e conservação da espécie.

2.2 Perda da biodiversidade

A biodiversidade compreende a variedade de genes, espécies ou características funcionais em um ecossistema, abrangendo desde a diversidade genética dentro de uma espécie até a diversidade em regiões inteiras ou ecossistemas. Todos esses níveis de diversidade são muito importantes, pois tornam os seres vivos adaptáveis e permite que espécies selvagens e domesticadas resistam a ameaças como doenças, mudanças climáticas, pragas e outras condições imprevisíveis (BROOKS, 2006; CARDINALE et al., 2012).

A biodiversidade está associada ao fornecimento de vários serviços ecossistêmicos essenciais, que podem ser definidos como os benefícios diretos ou indiretos que os seres humanos obtêm dos ecossistemas. Cabe destacar que se os serviços ecossistêmicos forem gerenciados adequadamente, a biodiversidade será mantida e vice-versa. Os serviços ecossistêmicos são classificados em quatro categorias, sendo todos fundamentais para a saúde e o bem estar humano, são os serviços de produção, regulação, culturais e de suporte (MACE et al., 2012; UK, 2011).

Os serviços de produção podem ser entendidos como bens ou produtos obtidos dos ecossistemas, as provisões de água doce, alimentos, fibras, combustível, compostos bioquímicos e recursos genéticos; os serviços de regulação são obtidos a partir do controle do ecossistema sobre processos naturais como a regulação do clima (sequestro de carbono), regulação de enchentes e fluxo hídrico, prevenção de erosão, de secas, da degradação dos solos, a proteção contra riscos naturais, o controle biológico de pragas e a polinização; os

serviços culturais abrangem prazeres estéticos, inspiração, recreação, valor espiritual e outros benefícios não materiais que contribuem para o nosso bem-estar; os serviços de suporte por sua vez, são processos naturais que mantêm os outros serviços ecossistêmicos, incluem a formação do solo, a fotossíntese e a renovação dos nutrientes, que estão na base do crescimento e da produção (MEA, 2003; UK, 2011; HARISSON et al., 2014).

Os serviços ecossistêmicos englobam todos os produtos naturais e processos que contribuem para o bem-estar humano, para o prazer pessoal e social derivado da natureza (LANDSBERG et al., 2011). E a biodiversidade é essencial para a sobrevivência dos ecossistemas, sendo necessário que as nações, regiões e comunidades façam o possível para conservar seus recursos vivos, principalmente devido a estes serem imprescindíveis para a sobrevivência humana, uma vez que são fontes de alimentos, energia e de uma variedade crescente de novos produtos (BENYUS, 2009; MITTERMEIER et al., 2011).

Entretanto, o crescimento populacional, mudanças climáticas e o desenvolvimento desenfreado, contribuem para grande perda da biodiversidade e muitas das espécies são extintas antes mesmo de serem conhecidas. A extinção é um processo irreversível e representa a perda de um genoma único, resultado de um processo evolutivo singular e não repetível, que apesar de ser um processo natural, está ocorrendo de forma anormal e rápida (CHAPIN et al., 2000; SANDIFER et al., 2015).

Ações antrópicas tais como, a degradação ambiental para a expansão agrícola, urbanização e desenvolvimento industrial, que ameaçam a viabilidade das populações naturais, além da poluição química que altera processos bioquímicos no solo, ar e a água, resultam na perda da biodiversidade (WAKE; VREDENBURG, 2008; MITTERMEIER et al., 2011).

Essa redução da biodiversidade impacta o funcionamento dos ecossistemas terrestres, tendo como consequências a perda da resistência e resiliência destes ecossistemas frente às mudanças ambientais, perda de genes, de espécies, características biológicas e, conseqüentemente, redução da capacidade dos ecossistemas de proporcionar bens e serviços, tais como, o fornecimento de alimentos, água doce, combustível, materiais estruturais, medicamentos ou recursos genéticos, necessários à sociedade (CHAPIN et al., 2000; CARDINALE et al., 2012). Sendo que a resistência é entendida como a capacidade de um sistema ecológico suportar ou ainda não se modificar frente a uma dada alteração (HARRISON, 1979; LOREAU et al., 2002), enquanto que a resiliência, refere-se à capacidade de um sistema restabelecer seu equilíbrio após este ter sido rompido por um distúrbio, ou seja, o tempo de retorno ao equilíbrio após um determinado distúrbio (LOREAU et al., 2002).

No Brasil, é possível observar as sérias consequências da perda da biodiversidade, pela ameaça de extinção da flora e ameaça e extinção de várias espécies da fauna, peixes e invertebrados aquáticos, considerando as listas nacionais de espécies ameaçadas de extinção que inclui o grau de risco de extinção de cada espécie nas categorias Extintas na Natureza (EW), Criticamente em Perigo (CR), Em Perigo (EN) e Vulnerável (VU) (MMA, 2017).

A partir da inclusão nessa lista, as espécies ficam protegidas de modo integral, incluindo a proibição de coleta e corte (flora), captura e guarda (fauna, peixes e invertebrados aquáticos), transporte, armazenamento, manejo, beneficiamento e comercialização, dentre outras (BRASIL, 2014a; BRASIL, 2014b; BRASIL, 2014c).

De acordo com a última lista que saiu no ano de 2014, são 2.113 espécies da flora, 698 espécies da fauna e 475 espécies de peixes e invertebrados aquáticos ameaçadas de extinção e 8 espécies da fauna e 2 de peixes e invertebrados aquáticos extintas (BRASIL, 2014a; BRASIL, 2014b; BRASIL, 2014c).

Embora *H. speciosa* não conste em nenhuma lista de extinção, o seu germoplasma é bastante ameaçado devido à redução de áreas de ocorrência natural da espécie pela fragmentação florestal. O seu fruto, a mangaba, foi considerado como um dos 200 produtos

brasileiros que correm o risco de desaparecer pela *Slow Food*, organização internacional que valoriza alimentos e culturas tradicionais (ZOCCHI, 2017).

Portanto, frente às crescentes ações antrópicas contrárias à manutenção da biodiversidade, são necessárias estratégias urgentes que permitam a conservação e a recuperação das espécies e ecossistemas.

2.3 Caracterização da biodiversidade

A biodiversidade contempla uma rica fonte de recursos genéticos, parte ainda está em processo de descoberta. Portanto, a caracterização desses recursos é uma ferramenta poderosa para acessar esse conhecimento (PESTANA, 2015).

Em relação aos recursos genéticos vegetais, a caracterização busca avaliar a diversidade genética do germoplasma disponível, identificando as diferenças entre os indivíduos de uma população ou entre os acessos de uma coleção, fornecendo informações que darão subsídio para o desenvolvimento de estratégias de conservação e a utilização em programas de melhoramento (FERREIRA et al., 2007).

Por meio da caracterização é possível o melhor manejo dos recursos genéticos, uma vez que é possível ter conhecimento da diferenciação da população e a extensão temporal e espacial do fluxo de genes, informações essenciais, visto que a conservação de recursos genéticos vai além da conservação da diversidade de espécies e engloba também as diferenças genéticas entre populações da mesma espécie (HILSDORF; HALLERMAN, 2017).

A caracterização serve como base para o delineamento de estratégias de conservação, em bancos de germoplasma, permitindo que se verifique a necessidade de coletar mais acessos ou incluir novos acessos oriundos de outros bancos de germoplasma, com o objetivo de aumentar a variabilidade do recurso genético disponível (CUNHA, 2011; DANTAS et al., 2012). Possibilita ainda a identificação de duplicatas, o estabelecimento de coleções nucleares e a identificação do modo de reprodução predominante em determinada espécie. Em programas de melhoramento genético possibilita a identificação de novos materiais de interesse (VALLS, 2007; DANTAS et al., 2012).

A caracterização dos recursos genéticos é feita empregando diferentes métodos, entre eles, a avaliação de características morfológicas e moleculares, considerando que estas possuam alta herdabilidade e sejam de fácil mensuração. A caracterização morfológica consiste na observação, mensuração e documentação de caracteres da planta que são herdáveis, consistentes e expressos homogeneamente em vários ambientes (FERREIRA et al., 2007).

O uso de marcadores morfológicos na caracterização é eficiente e amplamente empregado, entretanto, baseia-se em características que podem ser influenciadas pelo ambiente, e geralmente não permite diferenciar genótipos muito próximos ou prever a identidade genética dos acessos com alta precisão (CERVERA et al., 1998). Além disso, necessita de várias avaliações no campo ao longo da estação de crescimento, o que resulta em maiores custos (THOMPSON; NEWMASER, 2014).

Desse modo, os marcadores moleculares vêm sendo empregados como uma alternativa para auxiliar na caracterização e avaliação dos recursos genéticos. Tais marcadores permitem detectar a diversidade que excede a dos métodos tradicionais, uma vez que é possível verificar diferenças no último nível de variação incorporado pelas sequências de DNA de um indivíduo e não é influenciado pelo meio ambiente (THOMPSON; NEWMASER, 2014).

Dentre os marcadores moleculares utilizados para a caracterização dos recursos genéticos, o ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) amplifica segmentos de DNA presentes entre duas regiões microssatélites idênticas em direções opostas (WOLFE, et al., 1998; TIWARI et al., 2015). Baseiam-se no DNA altamente repetitivo e necessitam de um único *primer* variando de 16 a 18 pb de DNA com sequência repetida complementar aos sítios invertidos de microssatélite e que amplificam fragmentos de 100 a 3.000 pb (SEMAGN; BJORNSTAD; NDJIONDJOP, 2006; RAMALHO et al., 2012).

Os marcadores ISSR vêm sendo amplamente empregados na caracterização de recursos genéticos, principalmente por proporcionar o chamado *fingerprinting* do DNA, ou seja, pode-se obter “impressão digital” do DNA, pela qual é possível estabelecer a identidade das variedades e conhecer as fontes parentais em programas de melhoramento de plantas (CHARTERS; WILKINSON, 2000; REDDY et al., 2002). Adicionalmente apresentam grande potencial e eficiência, além de menores custos em relação aos demais marcadores, são de fácil uso e reprodutibilidade, ideal para estudo em espécies em que a informação genética não está disponível (RAMALHO et al., 2012; SOUZA, 2015).

Na literatura, o estudo da diversidade e estrutura genética de populações naturais e em bancos ativos de germoplasma, empregando o uso de marcadores ISSR, é amplamente relatado, inclusive para a mangabeira frutífera nativa do Brasil, sendo possível conhecer a diversidade genética dos acessos inseridos em bancos de germoplasma (COSTA et al., 2011; LUZ, 2016) e em populações naturais nos estados de Rio Grande do Norte, Pernambuco, Mato Grosso e Sergipe (COSTA et al., 2015; JIMENEZ et al., 2015; SOARES et al., 2016; FREITAS, 2016; SILVA et al., 2017), constatando assim a eficácia desse marcador na caracterização dos recursos genéticos.

2.4 Conservação da biodiversidade

O crescimento da população humana e das suas necessidades de consumo, acarretou na exploração insustentável dos recursos naturais, somando-se a isto, têm-se as mudanças climáticas, a acidificação dos oceanos e outros impactos ambientais, resultando em desestruturação dos ecossistemas e extinção de espécies. Assim, um dos maiores desafios para este século é a conservação da biodiversidade, considerando o elevado nível de perturbações antrópicas dos ecossistemas naturais (CHAPIN et al., 2000; MITTERMEIER et al., 2011).

A biodiversidade contempla toda a variedade de vida na terra, inclui todos os animais, plantas, micro-organismos e seus genes, além dos ecossistemas aquáticos, terrestres e marinhos (WANJUI, 2013). Considerando os ecossistemas e espécies florestais, o desmatamento e, a conseqüente redução e fragmentação do habitat são apontados como principais ameaças à biodiversidade (ALMEIDA et al., 2011).

São necessárias estratégias para a conservação da biodiversidade, no tocante aos ecossistemas florestais as ações de conservação devem contemplar o manejo florestal sustentável, ou seja, obter os benefícios econômicos e sociais respeitando os mecanismos de sustentação do ecossistema, possibilitando o máximo de benefícios para a geração atual e condições para atender às necessidades das futuras gerações (ROSOT, 2007; SHIMIZO, 2007).

Essas estratégias podem envolver a conservação *in situ*, manutenção das espécies no seu habitat natural e *ex situ*, que consiste na conservação das espécies fora do seu habitat, ou mesmo, pela combinação destes métodos (BRASIL, 2000), além do plantio de espécies florestais nativas.

A conservação *in situ* ocorre em áreas protegidas e no Brasil são conhecidas como Unidades de Conservação, divididas em dois grupos, as unidades de proteção integral, tais como a Estação Ecológica, Reserva Biológica, Parque Nacional, Monumento Natural e Refúgio da Vida Silvestre, permitido o uso indireto dos benefícios e vedada à exploração dos recursos naturais; e as unidades de uso sustentável, como as Áreas de Proteção Ambiental, Área Relevante de Interesse Ecológico, Floresta Nacional, Reserva Extrativista, Reserva de Fauna, Reserva de Desenvolvimento Sustentável e Reserva Particular do Patrimônio Natural, nas quais é permitido o uso dos recursos naturais de forma sustentável. Salienta-se que a conservação nessas áreas permite que as espécies continuem em seu processo evolutivo (BRASIL, 2000).

A conservação *ex situ* é realizada, principalmente em bancos de germoplasma, por meio do armazenamento de material de ancestrais, tais como sementes, material vegetativo *in vivo*, DNA, pólen e coleções a campo (BORÉM; MIRANDA, 2009). Essa estratégia tem um

papel importante em programas de recuperação de espécies ameaçadas de extinção, além de fornecer uma boa plataforma para oportunidades de pesquisa sobre os componentes da diversidade biológica.

Dentre as estratégias de conservação *ex situ*, o armazenamento de sementes é uma das mais importantes, contudo, seu sucesso depende da adoção de condições adequadas para a manutenção da viabilidade, que só é possível quando se tem conhecimento sobre o comportamento destas durante o armazenamento (UMARANI; AADHAVAN; FAISAL, 2015).

O maior banco de sementes é o *Svalbard Global Seed Vault*, instalação de reserva que detém mais de 860 mil sementes de alimentos de todo o mundo. Esse gigantesco banco de sementes trata-se de um projeto global promovido e financiado pelo governo da Noruega e apoiado pela *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), cuja missão é conservar a diversidade de culturas do planeta para a segurança alimentar das gerações atuais, futuras e a manutenção da biodiversidade (FAO, 2015).

No Brasil, estima-se que existam mais de 250 mil acessos de germoplasma conservados em médio e longo prazo, em unidades da Embrapa, empresas estaduais, institutos de pesquisas oficiais, universidades e empresas privadas pertencentes ao Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA). Desses, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia mantém a conservação de sementes de aproximadamente 107.000 acessos de 661 espécies, subespécies e raças (EMBRAPA, 2018). Existem ainda, os Bancos de Sementes Comunitários (BSCs) que servem para salvaguardar variedades de culturas locais e garantir o abastecimento de sementes para as comunidades locais (FAO, 2014a).

A FAO desenvolveu diretrizes para os bancos de genes que conservam os Recursos Genéticos Vegetais para Alimentos e Agricultura. No tocante às coleções de sementes, essas diretrizes foram desenvolvidas com base em uma série de consultas a especialistas em conservação de sementes visando a manutenção da viabilidade e integridade genética das sementes, assegurando assim o acesso e o uso de sementes de alta qualidade e recursos genéticos vegetais conservados. Cabe destacar que as sementes conservadas são, em sua maioria, de culturas usadas na alimentação humana e seus parentes selvagens (FAO, 2014b), evidenciando a necessidade de conservar também sementes de espécies florestais, visto que são fontes de inúmeras matérias primas, além de suas funções ecológicas.

2.5 Métodos de conservação de sementes

A conservação de sementes ocorre por meio do armazenamento, que tem como objetivo principal assegurar a manutenção do nível de qualidade física e fisiológica das mesmas, sendo portanto uma estratégia importante, segura e econômica para a conservação da diversidade genética das espécies vegetais nativas. Representa ainda um importante meio para suprir a demanda de mudas para o reflorestamento e recuperação de áreas degradadas (COSTA, 2009; UMARANI; AADHAVAN; FAISAL, 2015). Considerando que para algumas espécies nativas a produção de sementes ocorre de forma irregular, sendo abundantes ou escassas em diferentes épocas (CARNEIRO; AGUIAR, 1993).

O armazenamento deve ser iniciado na maturidade fisiológica e o grande desafio é a manutenção da viabilidade, mesmo após longos períodos. Assim, seu sucesso depende das condições adequadas para a manutenção da qualidade das sementes, que só é possível quando se tem conhecimento sobre o comportamento destas durante o armazenamento (UMARANI; AADHAVAN; FAISAL, 2015).

Outros aspectos a serem considerados para o armazenamento de sementes são a qualidade inicial do lote de sementes, o vigor, condições climáticas durante a maturação, grau de maturação no momento da colheita, presença de pragas e doenças, integridade física e secagem, pois todas elas exercem influência sobre a viabilidade e vigor das sementes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Quanto à tolerância à dessecação, as sementes são classificadas em ortodoxas e recalcitrantes, sendo essa informação essencial para definir estratégias de armazenamento, que normalmente ocorre empregando secagem das sementes e condições de baixa temperatura, visando reduzir a respiração e taxas metabólicas (HONG; ELLIS, 1996).

As sementes ortodoxas podem reduzir os teores de água aos níveis de 5 a 7% e armazenadas a baixas temperaturas sem que ocorram danos e, em condições normais, germinam (ROBERTS, 1973). Após a colheita podem passar por secagem artificial e armazenadas por longos períodos, além de serem resistentes às adversidades no período de latência, características que facilitam o seu armazenamento (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A conservação das sementes ortodoxas ocorre em ambiente controlado artificialmente, geralmente a câmara fria com temperaturas próximas a 10 °C e elevada umidade relativa do ar, na câmara seca com umidade relativa do ar variando de 40 a 45% ou câmara fria e seca com temperatura entre 5 e 10 °C e umidade relativa do ar entre 40 e 45%. Nos bancos de germoplasma, visando a preservação da qualidade fisiológica, são empregadas temperaturas abaixo de 0 °C e umidade relativa do ar inferior a 25 e 30% (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Sementes recalcitrantes, por sua vez, não podem ser secas abaixo de determinados teores de água sem que ocorram danos fisiológicos. Estas sementes não secam na planta mãe e são liberadas para o ambiente com altos teores de água. Sua viabilidade reduz na medida em que ocorre a redução do teor de água, até atingir umidade crítica, a partir do qual se as sementes continuarem a perder água, a viabilidade é reduzida a zero. A definição do teor de água mínimo ou seguro para as sementes recalcitrantes varia muito em função das diferentes espécies (ROBERTS, 1973; HONG; ELLIS, 1996).

Devido à rápida perda de viabilidade das sementes recalcitrantes, a conservação ocorre por meio de coleções a campo e, existe a percepção errônea que sementes recalcitrantes não podem ser armazenadas. Entretanto, existem relatos sobre o armazenamento de sementes utilizando reguladores de crescimento vegetal, tais como o ácido abscísico (ABA) com algum sucesso para sementes de *Inga uruguensis* Hook. & Arn. (BARBEDO; CICERO, 2000) e por meio da hidratação controlada com manutenção de sementes ou embriões recalcitrantes em soluções com potencial osmótico negativo (ANDRÉO; NAKAGAWA; BARBEDO, 2006).

Outro aspecto que exerce grande influência na viabilidade e no vigor das sementes durante o armazenamento é a composição química destas, que são compostas principalmente por proteínas, carboidratos e lipídeos. Essa é uma característica determinada por fatores genéticos e com grande variação entre as diferentes espécies. A composição química das sementes influencia na velocidade e intensidade do processo de deterioração, ou seja, na série de alterações fisiológicas, bioquímicas e físicas que eventualmente causam a morte das sementes (BAUDET, 2012).

Essas alterações no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos prejudicam o seu aproveitamento nos processos de síntese e liberação de energia (MARCOS FILHO, 2005). Dessa maneira, as sementes com maior teor de lipídeos em sua composição, como as da mangaba, são as que terão maior predisposição ao processo deteriorativo, principalmente aquelas com maior conteúdo de ácidos graxos insaturados (FREITAS, 2009). Nos lipídeos, as principais alterações são devido à hidrólise enzimática, peroxidação e autooxidação que resultam na destruição dos lipídeos e formação de produtos potencialmente tóxicos (MARCOS FILHO, 2005).

Portanto, a conservação de sementes por meio do armazenamento envolve uma série de particularidades, principalmente quando se trata de sementes recalcitrantes, sendo evidente a necessidade de estudos voltados para o desenvolvimento e otimização das metodologias de armazenamento visando atender as especificidades das diferentes espécies com sementes recalcitrantes e contribuir para a conservação destas.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA JUNIOR, A. R.; MOLINA, S. M. G.; MARTIRANI, L. A.; BALLESTER, M. V. R.; GARAVELLO, M. E. P. E.; VERDADE, L. M.; VICTORIA, R. L. “Uma Experiência de Cooperação Interdisciplinar: o Programa de Pós-Graduação Interunidades em Ecologia Aplicada”, in PHILIPPI Jr. A. e SILVA-NETO, A. (orgs.). **Interdisciplinaridade na Ciência, Tecnologia & Inovação**. Barueri, Manole, p. 298-324, 2011.
- ALMEIDA, L. M.; FLORIANO, J. F.; RIBEIRO, T. P.; MAGNO, L. N.; MOTA, L. S. L. D. da; PEIXOTO, N. et al. *Hancornia speciosa* latex for biomedical applications: physical and chemical properties, biocompatibility assessment and angiogenic activity. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, p. 2153-2162, 2014.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: Espécies Vegetais Úteis. **Planaltina: EMBRAPA-CPAC**, 1998, 464p.
- ALVES, R. E. A cultura da mangaba. **Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2006. cap. 16, p. 207-220.
- ANDRÉO, Y.; NAKAGUAW, J.; BARBEDO, C. J. Mobilização de água e conservação da viabilidade de embriões de sementes recalcitrantes de ingá (*Inga vera* Willd. Subsp. *affinis* (DC.) T.D. Pennington). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.29, p. 309 - 318, 2006.
- BARBEDO, C. J.; CICERO, S. M. The effects of initial quality, low temperature and ABA on the imbibed storage of seeds of *Inga uruguensis*, a tropical species with recalcitrant seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 28, n. 3, p. 793-808, 2000.
- BARROS, D. I.; BRUNO, R. de L. A.; NUNES, H. V.; MENDONÇA, R. M. N, PEREIRA, W. E. Comportamento fisiológico de sementes de mangaba submetidas à dessecação. **Revista ACTA Tecnológica**, Maranhão, v. 5, n 1, 2010.
- BAUDET, L. M. L. Armazenamento de sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3. ed. Pelotas: UFPel, 2012. 573 p.
- BENYUS, J. Borrowing nature's blueprints: Biomimicry. In: MCNEELY JA, MITTERMEIER, R. A.; BROOKS, T.M.; BOLTZ, F.; ASH, N. (eds) **The wealth of nature: ecosystem services, biodiversity, and human well-being**. CEMEX, Mexico, 2009.
- BESSA, L. A.; SILVA, F. G.; MOREIRA, M. A.; TEODORO, J. P. R.; SOARES, F. A. L. Characterization of nutrient deficiency in *Hancornia speciosa* Gomes seedlings by omitting micronutrients from the nutrient solution. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 616-624, 2013.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Ed. UFV. 2009. 529 p.
- BRASIL. **Convenção sobre Diversidade Biológica**: Conferência para Adoção do Texto Acordado da CDB – Ato Final de Nairobi. Brasília: MMA/SBF, 2000. 60p. (Biodiversidade, 2).

BRASIL. Lei nº 9.985, de 18 de julho de 2000. **SNUC – Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza**. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF, 18 de julho de 2000. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L9985.htm>. Acesso em: 17 out. 2017.

BRASILa. Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014. **Flora Ameaçada**. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF, 18 dez 2014. Seção 1, p. 110. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/static/pdf/portaria_mma_443_2014.pdf>. Acesso em: 17 out. 2017.

BRASILb. Portaria nº 444, de 17 de dezembro de 2014. **Fauna Ameaçada**. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF, 18 dez 2014. Seção 1, p. 121. Disponível: <http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2014/p_mma_444_2014_lista_esp%C3%A9cies_ame%C3%A7adas_extin%C3%A7%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 17 out. 2017.

BRASILc. Portaria nº 445, de 17 de dezembro de 2014. **Peixes e Invertebrados Aquáticos Ameaçados**. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF, 18 dez 2014. Seção 1, p. 126. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2014/p_mma_445_2014_lista_peixes_amea%C3%A7ados_extin%C3%A7%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 17 out. 2017.

BROOKS, T. M.; MITTERMEIER, R. A.; FONSECA, G. A. B. da; GERLACH, J.; HOFFMANN, M.; LAMOREUX, J. F. et al. Global biodiversity conservation priorities. **Science**, Washington, v. 313, p. 58-61. 2006.

CARDINALE, B. J.; DUFFY, J. E.; GONZALEZ, A.; HOOPER, D. U.; PERRINGS, C.; VENAIL, P. et al. Biodiversity loss and its impact on humanity. **Nature**, v. 486, 2012.

CARNEIRO, J. G. A.; AGUIAR, I. B. Armazenamento de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOGLIA, M.B (Coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília, DF; ABRATES, 1993. p. 333-350.

CARNELOSSI, M. A. G.; TOLEDO, W. F. F.; SOUZA, D. C. L.; LIRA, M. de L.; SILVA, G. F. da; JALALI, V. R. R. et al. Conservação pós-colheita de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 1119-1125, 2004.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.

CERVERA, M. T., CABEZAS, J. A.; SANCHÁ, J. C.; DE TODA, M.; MARTINEZ-ZAPATER, J. M. Application of AFLPs to the characterization of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources. A case study with accessions from Rioja (Spain). **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 97, n. 1-2, p. 51-59, 1998.

CHAPIN, F. S.; ZAVALA, E. S.; EVINER, V. T.; NAYLOR, R. L.; VITOUSEK, P. M.; REYNOLDS, H. L. et al. Consequences of changing biodiversity. **Nature**, v. 405, p. 234-242. 2000.

CHARLOQ, Z. L.; SIREGAR, T. H.; DAMANIK, S. B.; YAZID, A.; HUSNI, M. Physiology Changes of Shelled Rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) Seed after 16 days

- storage with PEG 6000 30% coating to induce secondary dormancy. **Journal of Agronomy**, v. 15, p. 11-18, 2016.
- CHARTERS, Y. N.; WILKINSON, M. J. The use of self-pollinated progenies as 'in-groups' for the genetic characterization of cocoa germoplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, p. 160-166, 2000.
- COSTA, T. S.; SILVA, A. V. C. da; LÉDO, A. da S.; SANTOS, A. R. F. dos; SILVA JÚNIOR, J. F. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 5, p. 499-508, 2011.
- COSTA, C. J. Armazenamento e conservação de sementes de espécies dos Cerrado. **Planaltina, DF: Embrapa Cerrados**, 2009. p. 30.
- COSTA, D. F.; VIEIRA, F. de A.; FAJARDO, C. G.; CHAGAS, K. P. T. das da et al. Diversidade genética e seleção de iniciadores ISSR em uma população natural de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 4, p. 970-976, 2015.
- CUNHA, C. P. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites e caracterização da diversidade genética molecular de acessos de alho (*Allium sativum*)**. 2011 91 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- DANTAS, A. C. A.; NUNES, G. H. de S.; ARAÚJO, I. S.; ALBUQUERQUE, L. B. Caracterização molecular de acessos de melão coletados no nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 183-189, 2012.
- DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Limited Fruit Production in *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) and Pollination by Nocturnal and Diurnal Insects. **Biotropica**, Kansas, v. 37, n. 3, p. 381- 388, 2005.
- DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Polinização. In: SILVA JUNIOR, J. F.; LEDO, A. S. (Org.). **A cultura da mangabeira**. Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros, p. 43-56, 2006.
- EMBRAPA. **PA2 - Conservação de germoplasma-semente em Coleção de Base**. Disponível em: < <http://plataformarg.cenargen.embrapa.br> >. Acesso em: 12 dez. 2017.
- FAO. **Ancient crops preserved for future generations in Arctic seed vault**. 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/news/story/en/item/326369/icode/>>. Acesso em: 12 dez. 2017.
- FAOa. **Community seed banks**. 2014. Disponível em: < http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/fao_ilo/pdf/Other_docs/FAO/Community_Seed_Banks.pdf >. Acesso em: 12 dez. 2017.
- FAOb. **Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture**. Rev. ed. Rome. 2014. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i3704e.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2017.
- FARRANT, J. M.; WALTERS, C. Ultrastructural and biophysical changes in developing embryos of *Aesculus hippocastanum* in relation to the acquisition of tolerance to drying. **Physiologia Plantarum**, v.104, p. 513 - 524. 1998.

FERREIRA, E. G.; MARINHO, S. J. O. Produção de frutos de Mangabeira para consumo *in-natura* e industrialização. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 1, n. 1, p. 9-14, 2007.

FERREIRA, H. C.; SERRA, C. P.; ENDRINGER, D. C.; LEMOS, V. S.; BRAGA, F. C.; CORTES, S. F. Endothelium-dependent vasodilatation induced by *Hancornia speciosa* in rat superior mesenteric artery. **Phytomedicine**, v. 26, n. 3, p. 473-478, 2007.

FERREIRA, M. E.; MORETZSOHN, M. C.; BUSO, G. S. C. Fundamentos de caracterização molecular de germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. (ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007, p. 377-420.

FLORIANO, J. F.; CAPUANO NETO, F.; MOTA, L. S. L. S. da; FURTADO, E. L.; FERREIRA, R. S.; BARRAVIERA, B. et al. Comparative study of bone tissue accelerated regeneration by latex membranes from *Hevea brasiliensis* and *Hancornia speciosa*. **Biomedical Physics & Engineering Express**, v. 2, p. 045007, 2016.

FREITAS, B. A. L. de. **Conhecimento local, diversidade morfogénica como subsídios para conservação da mangaba**. 2016. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2016.

FREITAS, R. A. Deterioração e armazenamento de sementes de hortaliças. Tecnologia de sementes de hortaliças. **Brasília, DF: Embrapa Hortaliças**, p. 155-184, 2009.

GANGA, R. M. D.; FERREIRA, G. A.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V.; NASCIMENTO, J. D. Caracterização de frutos e árvores de populações naturais de *Hancornia speciosa* Gomes do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 1, p. 101-113, 2010.

GARCIA, C.; COELHO, C. M. M.; MARASCHIN, M.; OLIVEIRA, L. M. de . Conservação da viabilidade e vigor de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze durante o armazenamento. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 4, p. 857-867, 2014.

HARRISON, G. W. "Stability under environmental stress: resistance, resilience, persistence, and variability". **The American Naturalist**, Chicago, v. 113, n. 5, p. 659-669, 1979.

HARRISON, P. A.; BERRY, P. M.; SIMPSON, G.; HASLETT, J. R.; BLICHARSKA, M. BUCUR, M. et al. Linkages between biodiversity attributes and ecosystem services: A systematic review. **Ecosystem Services**, v. 9, p. 191-203, 2014.

HENNIPMAN, H. S.; SANTOS, F. dos A.; VIEIRA, E. S. N.; AYER, C. G. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de araucária durante armazenamento. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 2, 2017.

HILSDORF, A. W. S.; HALLERMAN, E. M. **Genetic Resources of Neotropical Fishes**. Springer, 2017.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. A protocol to determine seed storage behaviour. **VIPGRI Technical Bulletin** n. 1, Engels JMM, Toll J, eds. Rome: International Plant Genetic Resources Institute. 1996.

IGBE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 12 dez. 2017.

JESUS, J. B. de; GAMA, D. C.; FERNANDES, M. M. Estudo da distribuição do bioma Mata Atlântica no estado de Sergipe. In: VIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS. **Anais...** Recife-PE, 2014.

JIMENEZ, H. J. et al. Genetic diversity of the Neotropical tree *Hancornia speciosa* Gomes in natural populations in Northeastern Brazil. **Genetics and molecular research**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 4, p. 17749-17757, 2015.

LANDSBERG, F.; OZMENT, S.; STICKLER, M.; HENNINGER, N.; TREWEEK, J.; VENN, O.; MOCK, G. Ecosystem Services Review for Impact Assessment: Introduction and Guide to Scoping. Washington: **World Resources Institute**, 34p, 2011.

LEDERMAN, I. E. **Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Jaboticabal: Funep, 53p., 2000.

LIMA, I. L. P.; SCARIOT, A. Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da Mangaba. **Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2010.

LIMA, I. L. P.; SCARIOT, A.; GIROLDO, A. B. Sustainable harvest of mangaba (*Hancornia speciosa*) fruits in northern Minas Gerais, Brazil. **Economy Botany**, v. 67, p. 234-243, 2013.

LOREAU, M.; DOWING, A.; EMMERSON, M.; GONZALEZ, A.; HUGHES, J.; INCHAUSTI, P. et al. A new look at the relationship between diversity and stability. Pp. 79-91. In: LOREAU, M.; NAEEM, S.; INCHAUSTI, P. (eds.). **Biodiversity and Ecosystem functioning: synthesis and perspectives** Oxford Press, London, UK. 294 p., 2002.

LUZ, G. A. **Diversidade genética em acessos de mangaba do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte**. 2016. 56p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

MACE, G. M.; NORRIS, K.; FITTER, A. Biodiversity and ecosystem services: a multilayered relationship. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 27, p. 19-26, 2012.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARINHO, D. G.; ALVIANO, D. S.; MATHEUS, M. E.; ALVIANO, C. S.; FERNANDES, P. D. The latex obtained from *Hancornia speciosa* Gomes possesses anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Laussanne, v. 135, p. 530-537, 2011.

MARTINS, G. V.; MARTINS, L. S. S.; VEASEY, E. A.; LEDERMAN, I. E.; SILVA, E. F. D. Diversity and genetics structure in natural populations of *Hancornia speciosa* var. *speciosa* Gomes in northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 4, p. 1143-1153, 2012.

MEA - MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT. **Ecosystems and human well-being: a framework for assessment**. Washington, DC: Island Press, 245 p., 2003. Disponível em: http://pdf.wri.org/ecosystems_human_wellbeing.pdf >. Acesso em: 18 dez. 2017.

- MENINO, I. B.; ARAÚJO, I. A.; LEITE, G. M. Solos. In: **Sistemas de Produção de mangaba para a Região Nordeste do Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2016. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Sistemas de Produção, 04). Disponível em: <<https://www.spo.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 17 dez. 2017.
- MITTERMEIE R. A. et al. Global biodiversity conservation: the critical role of hotspots. In: **Biodiversity hotspots**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2011. p. 3-22.
- MMA. **Atualização das listas de Espécies Ameaçadas**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/especies-ameacadas-de-extincao/atualizacao-das-listas-de-especies-ameacadas>>. Acesso em: 12 dez. 2017.
- MONACHINO, J. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). **Lilloa**, Tucúman, v. 11, p. 19-48, 1945.
- MOTA, D. M. da; SILVA JÚNIOR, J. D.; SCHMITZ, H. BRITO, J. D. S. As senhoras da mangaba. In: MOTA, D. M. da; SILVA JUNIOR, J. F. da; SCHMITZ, H.; RODRIGUES, R. F. de A. (Ed.). **A mangabeira, as catadoras, o extrativismo**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental; Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2011.
- MOURA, N. F.; CHAVES, L. J.; VENCOVSKY, R. NAVES, R. V.; AGUIAR, A. V. de; MOURA, M. F. Genetic structure of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) populations in the cerrado region of central Brazil. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v. 27, n. 3, p. 473-481, 2011.
- PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Aspects of recalcitrant seed physiology. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, p. 56-69, 2000.
- PEREIRA, A. C.; PEREIRA, A. B. D.; MOREIRA, C. C.; BOTION, L. M.; LEMOS, V. S.; BRAGA, F. C.; CORTES, S. F. *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) as a potential anti-diabetic drug. **Journal of Ethnopharmacology**, Laussanne, v. 161, p. 30-35, 2015.
- PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; SILVA JÚNIOR, J. F.; SILVA, D. B. da. *Hancornia speciosa* (mangabeira). In: Vieira, R. F; CAMILO, J.; CORADIN, L. **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial**. Brasília, DF. Ministério do Meio Ambiente, p. 12, 2016.
- PEREIRA, A. V.; AGOSTINI-COSTA, T. D. S.; SILVA, D. D.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**. 1ª ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. cap. 8, 2006. p. 136-151.
- PESTANA, R. K. N. **Caracterização molecular de cafeeiros do germoplasma Bourbon**. 2015. 133 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.
- PINTO, C. E.; OLIVEIRA, R.; SCHLINDWEIN, C. Do consecutive flower visits within a crown diminish fruit set in mass-flowering *Hancornia speciosa* (Apocynaceae)? **Plant Biology**, v.10, n. 3, p. 408-412, 2008.
- PRITCHARD, H. W.; DAWS, M. I. FLETCHER, B. J.; GAMÉNE, C. S.; MSANGA, H. P.; OMONDI, W. Ecological correlates of seed desiccation tolerance in tropical African dryland trees. **American Journal of Botany**, v. 91, n. 6, p. 863-870, 2004.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; PINTO, C. A. B. P.; SOUZA, E. A. de; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. de. **Genética na Agropecuária**. 5. ed. Lavras: Editora UFLA, 2012. v. 1. 565p.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIG, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, v. 128, n. 1, p. 9-17, 2002.

Rede *species* Link. Disponível em: <<http://www.splink.org.br>>. Acesso em: 14 dez. de 2017.

REIS, C. A. F.; SOUZA, A. M. D.; MENDONÇA, E. G.; GONÇALVES, F. R.; MELO, R. M. G.; CARVALHO, D. D. et al. Diversidade e estrutura genética espacial de *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae) em uma floresta paludosa. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 265-275, 2009.

RIBEIRO, J. F.; SILVA, J. C. S. Manutenção e recuperação da biodiversidade do bioma cerrado: o uso de plantas nativas. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO; INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL SAVANNAS, 1996, Brasília. **Anais...** Planaltina: Embrapa-CPAC, 1996. p. 10-14.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 3, p. 499-514, 1973.

ROSOT, M. A. D. Manejo florestal múltiplo: uma alternativa contra a extinção da Floresta com Araucária? **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 55, p. 75-85, 2007.

SANDIFER, P. A.; SUTTON-GRIER, A. E.; WARD, B. P. Exploring connections among nature, biodiversity, ecosystem services, and human health and well-being: Opportunities to enhance health and biodiversity conservation. **Ecosystem Services**, v. 12, p. 1-15, 2015.

SANTOS, P. C. G. dos; ALVES, E. U.; GUEDES, R. S.; SILVA, K. B.; CARDOSO, E. A.; LIMA, C. R. de. Qualidade de sementes de *Hancornia speciosa* Gomes em função do tempo de secagem. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 343-352, 2010.

SEMAGN, K.; BJORNSTAD, A.; NDJIONDJOP, M. N. An overview of molecular marker methods for plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 25, p. 2540-2568, 2006.

SENA, L. H. de M.; MATOS, V. P.; MEDEIROS, J. É. D.; SANTOS, H. H. D.; ROCHA, A. P.; FERREIRA, R. L. C. Storage of pitombeira seeds [*Talisia esculenta* (A. St. hil) Radlk - Sapindaceae] in different environments and packagings. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 40, n. 3, p. 435-445, 2016.

SHIMIZU, J. Y. Estratégia complementar para conservação de espécies florestais nativas: resgate e conservação de ecótipos ameaçados. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 54, p. 07-35, 2007.

SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. **Mangaba. Agência Embrapa de Informação Tecnológica**, 2011. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/mangaba/arvore/CONT000fmmnuz01602wyiv80txmlleb7gc0wj.html>>. Acesso em: 12 dez. 2017.

- SILVA, A. V. C. da; AMORIM, J. A. E.; VITÓRIA, M. F. D.; LEDO, A. D. S.; RABBANI, A. R. C. Characterization of trees, fruits and genetic diversity in natural populations of mangaba. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 41, n. 3, p. 255-262, 2017.
- SILVA, A. V. C.; SANTOS, A. R. ; WICKERT, E.; SILVA JÚNIOR, J. F.; COSTAR, T. S. Divergência genética entre acessos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 4, p. 572-578, 2011.
- SOARES, A. N. R.; VITÓRIA, M. F.; NASCIMENTO, A. L. S.; LEDO, A. D. S.; RABBANI, A. R. C.; SILVA, A. V. C. Genetic diversity in natural populations of mangaba in Sergipe, the largest producer State in Brazil. **Genetic and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 3, p. 1-12, 2016.
- SOARES, A. N. R.; MELO, M. F. V.; M. F.; SILVA, A. V. C. Physiological quality of mangaba seeds submitted to drying. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 52, p. 4808-4813, 2015.
- SOARES, F. P. et al. Cultura da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Boletim Agropecuário**, Lavras, v. 1, n. 67, p. 1-12, 2006.
- SOARES, F. P.; PAIVA, R.; CAMPOS, A. C. A. L.; PORTO, J. M. P.; NOUGUEIRA, R. C.; STEIN, V. C. Germinação de sementes de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 1180-1182, 2008.
- SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Paulínia, v.17, n. 3, p. 495-503, 2015.
- THOMPSON, K. A.; NEWMASER, S. G. Molecular taxonomic tools provide more accurate estimates of species richness at less cost than traditional morphology-based taxonomic practices in a vegetation survey. **Biodiversity and Conservation**, v. 23, n. 6, p. 1411-1424, 2014.
- TIWARI, J. K.; POONAM, P.; SAURABH, S.; DEVI, S.; ALI, N.; BHARDWAJ, V.; SINGH, B. P. Molecular characterization of potato somatic hybrids by inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Potato Journal**, v. 42, n. 1, p. 1-7, 2015.
- UK. **National Ecosystem Assessment**. The UK National Ecosystem Assessment: Synthesis of the Key Findings, UNEP-WCMC, 2011.
- UMARANI, R.; AADHAVAN, E. K.; FAISAL, M. M. Understanding poor storage potential of recalcitrant seeds. **Current Science**, v. 108, p. 2023-2034, 2015.
- VALLS, J. F. Caracterização de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L. L.(Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, 2007. Cap. 8. p. 281-306.
- VIEIRA NETO, R. D.; CINTRA, F. L. D.; LEDO, A. S.; SILVA JÚNIOR, J. F.; COSTA, J. L. S.; SILVA, A. A. G.; CUENCA, M. A. G. **Sistema de produção de mangaba para os tabuleiros costeiros e baixada litorânea**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 22p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Sistemas de Produção, 02). Disponível em: <<http://www.cpatc.embrapa.br>>. Acesso em: 04 de nov. de 2017.

VIEIRA NETO, R. D.; SILVA JUNIOR, J. F. ; LEDO, A. S. Mangaba. In: SANTOS; SEREJO, J. A. dos; DANTAS, J. L. L.; COELHO, C. V. S.; COELHO, Y. S. (Org.). **Fruticultura Tropical espécies regionais e exóticas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 323- 338, 2009.

WAKE, D. B.; VREDENBURG, V. T. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, p. 11466-11473, 2008.

WANJUI, J. Biodiversity Conservation Needs and Method to Conserve the Biological Diversity. **Journal of Biodiversity Endangered Species**, v. 1, p. 113, 2013.

WOLFE, A. D.; XIANG, Q.; KEPHART, S. R. Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. **Molecular Ecology Resources**, v. 7, n. 2, p. 1107-1125, 1998.

ZOCCHI, D. M. (Coord.). **A arca do gosto no Brasil: alimentos, conhecimentos e histórias do patrimônio gastronômico**. São Paulo: VOX Gráfica, 2017.

4. ARTIGO 1

DIVERSIDADE MORFOGENÉTICA DE MATRIZES DE MANGABEIRA EM POPULAÇÃO NATURAL

Periódico a ser submetido: Ciência Agronômica

RESUMO

A mangabeira é considerada árvore símbolo do estado de Sergipe, tem ampla distribuição no estado e apresenta grande potencial frutífero e farmacológico. Seus produtos são obtidos por meio de atividades extrativistas nas áreas remanescentes. Existem poucos plantios comerciais e pesquisas com as populações nativas são necessárias, visando à caracterização e avaliação do potencial para a conservação da espécie e programas de melhoramento genético. Objetivou-se avaliar a diversidade morfofenética de matrizes de mangabeira em uma área de ocorrência natural. Foram coletados frutos em 14 matrizes no povoado Baixa Grande, Pirambu-SE. O número de frutos e a biometria por matriz foi determinada, bem como a massa da polpa, de sementes e o número de sementes por fruto. Para a caracterização molecular, as matrizes foram avaliadas por marcadores moleculares ISSR. Verificou-se que as matrizes de mangabeira apresentaram altos níveis de variação para as características biométricas e para a massa da polpa e sementes. Quatro matrizes se destacaram por apresentar maior tamanho de frutos e massa de polpa por fruto. Em ISSR observou-se que 60,44% dos locos obtidos eram polimórficos, o nível de heterozigosidade foi 0,40 e o índice de Shannon 0,58. De acordo com as avaliações pode-se concluir que na população há potencial para prospecção de diversidade e utilização em trabalhos futuros de seleção.

Palavras-chave: *Hancornia speciosa* Gomes, pré-melhoramento, seleção.

ABSTRACT**THE MORPHOGENETIC DIVERSITY OF THE NATURAL POPULATION OF MANGABEIRA MATRIXES**

The mangabeira is considered to be a tree symbol of the State of Sergipe, Brazil. It has a wide distribution in the state and it presents a great potential of fruitful and pharmacological properties. There are few commercial plantations. As a result, surveys with native populations are needed, aimed at characterizing and assessing their potential for species conservation and their breeding programs. The objective of this study was to evaluate the morphogenetic diversity of the mangabeira matrices in an area of natural occurrence. The fruits were collected from 14 matrices in the municipality of Baixa Grande, Pirambu-SE, Sergipe, Brazil. The number of fruits, their estimated yield and their matrix biometry were determined, together with their mass of pulp and seeds, as well as the number of seeds per fruit. For their molecular characterization, the matrices were evaluated by ISSR molecular markers. It was verified that the mangabeira matrices showed high levels of variation for their biometric characteristics and for the mass of their pulp and seeds. Four matrices were characterized by a larger fruit size and pulp mass per fruit. From the ISSR molecular markers, it was observed that 60.44% of the loci obtained were polymorphic. Their heterozygosity level was 0.40 and their Shannon index was 0.58. Through the evaluations, it was concluded that for this mangabeira population in the settlements of Baixa Grande, there was a potential for prospective diversity and for their use in future selection works.

Keywords: *Hancornia speciosa* Gomes, pre-breeding, selection

4.1 Introdução

O Brasil é conhecido pela sua imensa biodiversidade, tendo em seu território um patrimônio genético vasto e um elevado número de espécies endêmicas que habitam os mais variados ecossistemas existentes no país (GONÇALVES et al., 2013). Entretanto, muitas vezes por falta do conhecimento da importância desses recursos genéticos para a sociedade, eles são negligenciados, subexplorados e até extintos antes que ocorra o uso adequado das suas potencialidades.

Portanto, estudos voltados para a caracterização, conservação e utilização adequada desses recursos genéticos são de grande relevância, principalmente no Brasil, onde existem inúmeras espécies nativas que ainda não foram estudadas. Dentre as espécies com alto potencial econômico se destaca a mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), presente em praticamente todas as regiões do país.

Essa árvore possui características de grande interesse comercial, pois seus frutos são apreciados para o consumo *in natura* e também utilizados como matéria-prima para a agroindústria, nas formas processadas de polpa congelada, suco engarrafado, sorvetes, doces, licores e geleias. Além de apresentarem um alto valor nutritivo e teor proteico, dentre os elementos encontrados em sua composição, destacam-se as vitaminas A, B1, B2 e C, e elementos como ferro, fósforo e cálcio (SOARES et al., 2008; FERREIRA; MARINHO, 2007).

Embora a mangabeira apresente grande potencial econômico e de alta demanda por seus frutos e coprodutos, os mesmos são obtidos por meio de atividades de extrativismo em áreas remanescentes, com poucos plantios comerciais. Salienta-se que a espécie ainda está em fase de domesticação e não existem descritores mínimos oficiais estabelecidos, assim, os caracteres de interesse para o melhoramento genético não estão bem definidos. Na literatura são encontrados alguns trabalhos desenvolvidos com o objetivo de caracterizar a espécie indicando possíveis descritores morfológicos (GANGA et al., 2010; SILVA et al., 2011; FREITAS et al., 2012; FREITAS, 2016) e da caracterização molecular para populações naturais (JIMENEZ et al., 2015; FREITAS, 2016).

Estudos visando a caracterização da variabilidade e a diversidade genética de populações naturais de mangabeira, possibilitam a identificação de árvores com características superiores e com potencial para a produção de frutos visando à comercialização *in natura* e de polpas, bem como árvores a serem inseridas em programas de conservação. Nesse aspecto, o uso de marcadores genéticos, sejam eles morfológicos ou moleculares podem contribuir para a caracterização e avaliação da diversidade e estrutura genética das populações e, assim, fornecer importantes informações para os programas de conservação e melhoramento da espécie.

Objetivou-se com este trabalho caracterizar matrizes de mangabeira em área de ocorrência natural para avaliar a magnitude e a distribuição da variabilidade fenotípica existente entre elas, por meio de análises morfométricas de frutos e pela diversidade genética com marcadores ISSR.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Material vegetal

A coleta para obtenção do material vegetal foi realizada no mês de março de 2017, no povoado Baixa Grande, município de Pirambu, litoral do estado de Sergipe. O clima da região se caracteriza como subúmido, tipo As – tropical chuvoso com verão seco, para a classificação climática de Köppen-Geiger (ALVARES et al., 2014). A precipitação anual varia de 1.500 a 1.800 mm, com temperatura média anual de 26 °C (SEPLAG, 2011) e o solo do tipo neossolo quartzarênico (SILVA; SANTOS, 2010). A escolha desta população foi realizada tendo como base os resultados obtidos por Freitas (2016) que apontou a ocorrência

de variações para as características de frutos e grande diversidade genética para estes indivíduos (FIGURA 4.1).

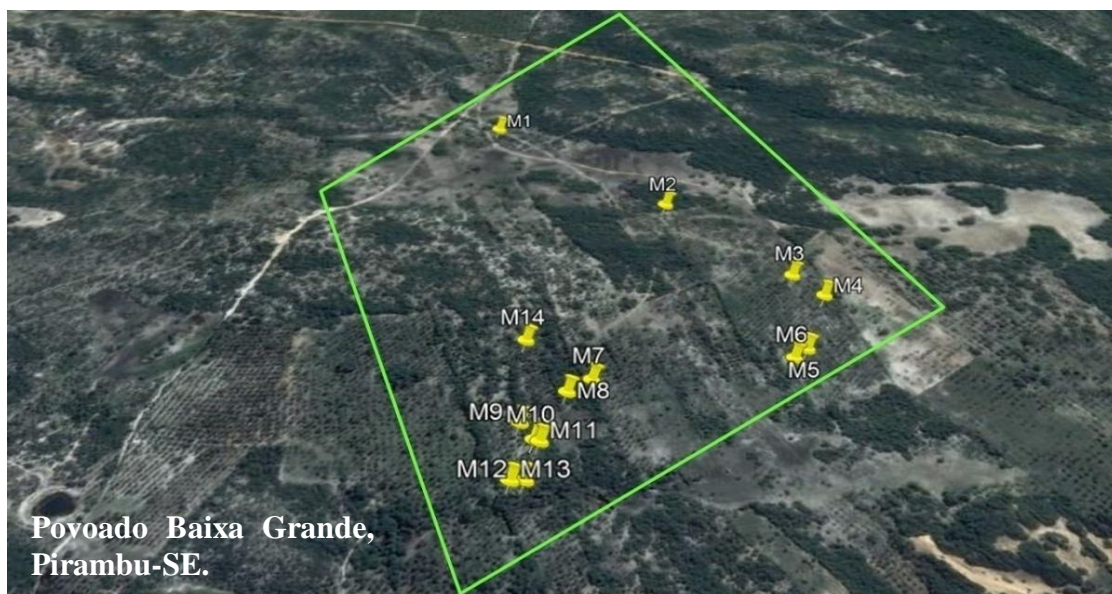


FIGURA 4.1 Distribuição espacial das matrizes de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em população natural do Povoado Baixa Grande, Pirambu, SE. Google Earth, 2018.

Foram amostradas 14 matrizes encontradas por caminhar no local, selecionando aquelas com distância entre 30 e 50 m (KAGEYAMA; GANDARA, 1999) que apresentavam bom aspecto fitossanitário e dispunham de frutos com sinais de maturação (coloração amarelo claro com estrias avermelhadas e textura tenra) durante a coleta. Os frutos de cada matriz foram acondicionados em sacos de polietileno devidamente identificados e em isopores para não serem danificados durante o transporte. Para a análise molecular foram coletadas folhas jovens de cada matriz, identificadas e acondicionadas em recipiente contendo sílica gel.

4.2.2 Caracterização dos frutos

Os frutos foram levados ao Laboratório de Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Sergipe, onde foram separados e contados, obtendo-se o número de frutos (NF) para cada matriz e submetidos a análises individualizadas do diâmetro longitudinal (DL) e diâmetro transversal (DT) mensurados com o auxílio de paquímetro digital (Messen) e expressos em milímetros (FIGURA 4.2), a massa fresca da polpa em gramas (MP) e a massa de sementes (MS) com auxílio de balança analítica, bem como o número de sementes (NS) de cada fruto. O rendimento da polpa (REND) foi estimado pela relação da massa da polpa e a massa da polpa mais a massa de sementes dos frutos de cada matriz. A produção (PROD) por planta foi estimada pelo produto entre o número de frutos e a massa dos frutos de cada matriz.

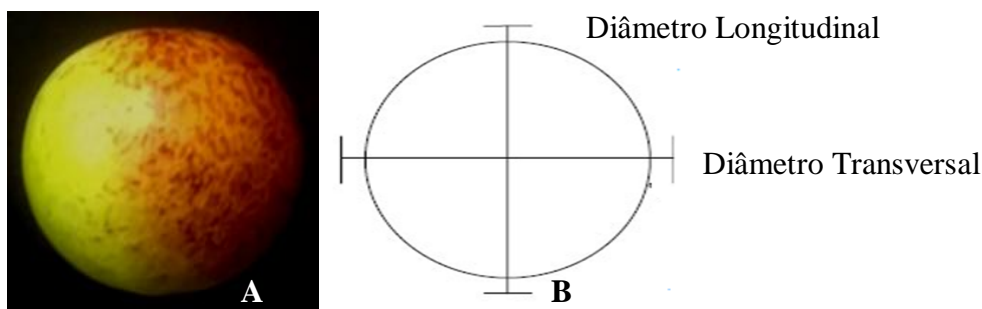


FIGURA 4.2 Fruto da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) (A) e ilustração da biometria por meio dos diâmetros longitudinal e transversal (B).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, adotando-se como amostra o número total de frutos obtidos para cada matriz, a média de frutos foi computada. Os dados obtidos foram avaliados por meio da estatística descritiva. Posteriormente foi calculado o coeficiente de correlação não paramétrico de Spearman (rS) e o respectivo nível de significância (p) entre as variáveis por meio do teste t (ZAR, 1996) utilizando o *software* GENES (CRUZ, 2007).

4.2.3 Caracterização molecular via marcadores ISSR

Para a caracterização por meio de marcadores ISSR, realizou-se a extração de DNA genômico de folhas jovens de mangabeira de acordo com o protocolo descrito por Nienhuis et al. (1995), com modificações. Utilizou-se aproximadamente 2 g de folhas para maceração em almofariz contendo 1 mL de tampão de extração CTAB 2% (2% de CTAB, 100 mM de Tris (pH 8,0), 20 mM de EDTA (pH 8,0), 1,4 M de NaCl e 1% de PVP) e 20 µL de β-mercaptoetanol. O macerado foi transferido para tubos de 2 mL e levado ao banho-maria a 65 °C por 40 minutos. As amostras foram purificadas com a adição de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) e centrifugados a 14.000 rpm, por 10 minutos. O sobrenadante obtido foi micropipetado e a ele adicionado álcool:acetato de amônio, mantido a -20 °C *overnight* para precipitação do DNA. Após estes períodos foram centrifugadas a 14.000 rpm por 15 minutos, o sobrenadante descartado e o precipitado deixado para secar em temperatura ambiente.

O DNA foi solubilizado em TE (1 mM de Tris e 0,1 mM de EDTA) e a qualidade e concentração de DNA de cada amostra determinadas em espectrofotômetro (ASTRAGEN), com base na absorbância a 260 nm e 280 nm.

Para a geração de polimorfismo entre os indivíduos, foram selecionados *primers* ISSR (TABELA 4.1) que permitiram a obtenção de fragmentos de alta intensidade e resolução.

TABELA 4.1 *Primers* ISSR usados para o estudo de diversidade das matrizes de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) e suas respectivas sequências e temperatura de anelamento.

<i>Primers</i> ISSR	Sequência	T° A	<i>Primers</i> ISSR	Sequência	T° A
UBC 807	(AG)8-T	43	DAT	(GA)7-RG	43
UBC 808	(AG)8-C	47	GOOFY	(GT) - YG	48
UBC 809	(AG)8-G	48	M1	(GA)5	31
UBC 810	(GA)8-T	43	M2	(GA)8	64
UBC 811	(GA)8-C	45	MANNY	(CAC)4-CR	54
UBC 813	(CT)8-T	44	MAO	(CTC)4-RC	45
UBC 825	(AC)8-T	47	OMAR	(GAG)4-RC	47
UBC 834	(AG)8-YT	47	TERRY	(GTC)A-RC	53
AW3	(GT)6-RG	44			

As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador (Uniscience Biometra Tpersonal), em um volume de 12 µL contendo: DNA genômico (5 ng); tampão de PCR com MgCl adicionado; dNTPs (2,5 mM); enzima Taq polimerase (5 U/µL) (Invitrogen); *primer* (2 µM) e água ultra-pura.

As reações de PCR foram submetidas a 35 ciclos de amplificação, os produtos da reação foram separados por eletroforese, em cuba horizontal, utilizando-se gel de agarose 1,5% em tampão TBE 1X, a 100 V, corados com *Gel Red*TM e os géis fotografados sob luz ultravioleta em transiluminador digital (Benchtop).

O perfil eletroforético de cada gel foi analisado visualmente, e segundo a ausência (0) ou presença (1) de fragmento amplificado foi gerada uma matriz binária.

Para determinar o número mínimo de fragmentos amplificados necessários para estudos de diversidade genética, foram obtidas as estimativas de correlação (r) e o valor de estresse (E), que indica o ajuste entre a matriz original e a matriz simulada. O número ótimo de fragmentos foi calculado por meio do *software* GENES (CRUZ, 2007) e considerado

satisfatório para as análises quando o valor do estresse foi inferior a 0,05 (KRUSKAL, 1964) e a correlação mais próxima de 1.

A similaridade genética foi calculada por meio do coeficiente de Jaccard, utilizando o programa NTSYS 2.215 (ROHLF, 2008). Para a representação dos dados de similaridade foi construído um dendrograma, obtido pelo método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average* - Agrupamento aos Pares pela Média Aritmética Não Ponderada) (SNEATH; SOKAL, 1973).

Com base na matriz de similaridade genética foi estimada a análise de coordenadas principais (ACoP) utilizando o programa GenAlEx 6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012).

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Caracterização dos frutos

A análise dos frutos de *H. speciosa* revelou a existência de variação significativa para quase todos os caracteres analisados. O número de frutos obtidos por matriz variou entre 5 (M2) e 32 (M9) e o rendimento variou de 0,77 (M4) a 0,85 (M14), com média correspondendo a 0,81 g/fruto, a produção média estimada correspondeu a 128,64 g/matriz \pm 28,03 e variou de 26,91 \pm 28,03 (M6) a 378,68 \pm 28,03 (M9) (TABELA 4.2).

TABELA 4.2 Características físicas de frutos obtidos em matrizes de *Hancornia speciosa* Gomes.

M	Número de frutos	Rendimento (g/fruto)	Produção estimada (g)*
M1	10	0,78	65,86
M2	5	0,81	52,23
M3	6	0,79	40,73
M4	9	0,77	66,17
M5	6	0,82	36,59
M6	6	0,79	26,91
M7	9	0,79	146,45
M8	17	0,79	171,25
M9	32	0,81	378,68
M10	7	0,84	70,58
M11	11	0,79	212,09
M12	12	0,84	127,11
M13	22	0,79	294,79
M14	19	0,85	114,34
\bar{x}	12	0,81	128,84
s^2	59,87	0,001	10216,61
ERP	2,06	0,007	28,03
Máx	32	0,85	378,68
Mín	5	0,77	26,91

*Produção estimada com a coleta de frutos somente do dia 14 de março de 2017.

O rendimento da polpa verificado neste estudo apresentou valor semelhante ao obtido para populações de *H. speciosa* no cerrado (GANGA et al., 2010). A produção apresentada na Tabela 4.2 se refere à coleta realizada no dia 14 de março de 2017 e, portanto, está subestimada e consequentemente não pode ser comparada com dados de produção estimada da literatura. Ressalta-se que isto se deve ao fato de que esta área é região de atuação das Catadoras de Mangaba, e parte dos frutos podem ter sido retirados antes, o que ocasionou no menor número de frutos durante a coleta.

O rendimento da polpa e a produção de frutos por matrizes são informações necessárias no direcionamento da seleção de matrizes para o cultivo comercial, que para ser viável depende de matrizes que reúnam características superiores às plantas em estado natural (GANGA et al., 2010). Essas variáveis são informativas também para estudos da variabilidade das populações naturais, especificamente para a mangabeira é possível associar essas variáveis com a diversidade genética da população e presença de polinizadores, por ser espécie alógama e autoincompatível, para que ocorra a produção de frutos é necessário a presença de matrizes diferentes geneticamente e a produção e tamanho dos frutos estão associados a presença de polinizadores (DARRAULT; SCHLINDWEIN, 2006).

A maior variação biométrica nos frutos de uma única árvore foi obtida na matriz M5 para o diâmetro longitudinal ($s^2 = 30,91$) e M14 para o diâmetro transversal ($s^2 = 45,91$). Os maiores valores biométricos de frutos foram observados para as matrizes M11 (DL = 38,39 mm \pm 1,10) e M7 (DT = 37,83 mm \pm 1,23) e os menores valores para a matriz M5 (DL = 25,64 mm \pm 1,10) e (DT = 22,12 mm \pm 1,23) (TABELA 4.3).

TABELA 4.3 Biometria de frutos obtidos em matrizes de *Hancornia speciosa* Gomes por meio do Número de Frutos (NF), Rendimento (REND), Diâmetro Longitudinal (DL), Diâmetro Transversal (DT), Massa de polpa (MP), Massa de Sementes (MS) e Número de Sementes (NS).

M	DL (mm)	s^2	DT (mm)	s^2	MP (g)	s^2	MS (g)	s^2	NS	s^2
M1	26,47	22,02	26,10	20,41	5,13	10,45	1,45	0,80	6	24,27
M2	29,22	23,77	28,64	27,99	8,49	2,81	1,95	0,17	9	4,70
M3	27,08	12,84	25,75	11,08	5,35	2,59	1,44	0,89	10	32,57
M4	28,42	12,31	26,37	5,56	5,67	6,68	1,69	0,47	12	62,94
M5	25,78	30,91	22,12	12,49	5,02	16,65	1,08	0,84	7	12,80
M6	27,07	13,58	24,10	14,84	3,54	0,52	0,94	0,03	4	2,00
M7	38,29	13,42	37,83	16,16	12,94	6,26	3,34	1,74	16	40,00
M8	33,03	13,49	26,63	12,76	7,97	16,91	2,11	1,67	10	30,68
M9	33,98	18,29	30,99	17,11	9,60	20,62	2,24	0,69	11	21,59
M10	34,06	15,49	32,04	23,23	8,52	9,26	1,57	0,39	7	10,33
M11	38,39	11,28	36,54	12,60	15,24	30,26	4,04	1,74	13	35,65
M12	29,96	16,75	26,75	10,93	8,86	15,93	1,73	1,56	12	75,61
M13	33,12	23,88	30,03	31,00	10,65	43,08	2,75	3,02	15	32,85
M14	30,84	17,31	24,08	45,91	5,11	10,76	0,91	0,15	6	8,14
\bar{x}	31,12	17,52	28,43	18,72	8,01	13,77	1,95	1,01	10	28,15
s^2	17,21	-	21,29	-	11,18	-	0,82	-	13,77	-
ERP	1,10	-	1,23	-	0,89	-	0,24	-	0,99	-
Máx	38,39	30,91	37,83	45,91	15,24	43,08	4,04	3,02	16	75,61
Mín	25,78	11,28	22,12	5,56	3,54	0,52	0,91	0,03	4,00	2,00

Resultados semelhantes foram obtidos para mangabas coletadas em população natural no Nordeste brasileiro e no Cerrado, com diâmetro longitudinal de 33,37 mm e 34,8 mm e diâmetro transversal de 26,8 mm e 32,9 mm (ARAÚJO et al., 2009; FREITAS et al., 2012).

A maior variação em massa de polpa e massa de sementes para os frutos de uma única árvore foi obtida na M13 ($s^2 = 43,08$ e $s^2 = 3,02$) e para número de sementes na M12 ($s^2 = 75,61$). A maior massa de polpa (15,24 g \pm 0,89) e massa de sementes (4,04 g \pm 0,24) foi observada na matriz M11, enquanto que os menores valores para estas variáveis foram observados na matriz 6 (MP = 3,54 g \pm 0,89) e M14 (MS = 0,91 g \pm 0,24) (TABELA 4.3).

Valores menores que os obtidos neste estudo foram verificados para populações de mangabeiras do oeste da Bahia, para as quais verificou-se massa de polpa correspondente a 14,77g e 2,40g para a massa de sementes por fruto (NASCIMENTO et al., 2014). Estas

diferenças podem estar associadas à variabilidade genética ou a variações ambientais devido a localidades geográficas diferentes (VIEIRA; GUSMÃO, 2008). Especificamente para a população analisada nesta pesquisa, as condições edafoclimáticas correspondem a clima subúmido, com precipitação anual variando de 1.500 a 1.800 mm e a vegetação considerada Mata Secundária: Mata Atlântica, Manguezal, Restinga (SEPLAG, 2011). Enquanto que na região avaliada na Bahia as condições foram clima subúmido seco, com verão chuvoso e inverno extremamente seco e a precipitação pluvial anual de 700 a 2.000 mm (AIBA, 2004).

O tipo de solo também pode contribuir para a variação observada, adicionalmente para a mangabeira de acordo com Darrault e Schlindwein (2006) a presença de polinizadores também pode influenciar na produção, tamanho e número de sementes dos frutos, sendo observado que a polinização eficiente contribui para a formação de frutos mais pesados e com maior quantidade de polpa e maior número de sementes.

As estimativas dos coeficientes de correlação de Spearman (rS) (TABELA 4.4) não foram significativas para variável rendimento quando correlacionadas com as demais variáveis, o mesmo ocorreu para o número de frutos que só apresentou correlação significativa com a produção estimada (0,85) conforme esperado. Enquanto que as variáveis biométricas, massa da polpa, massa de sementes, número de sementes e a produção estimada apresentaram correlação positiva e todas significativas estatisticamente.

TABELA 4.4 Correlação de Spearman (rS) para as variáveis Número de frutos (NF), Rendimento (REND), Produção estimada (PROD), Diâmetro Longitudinal (DL), Diâmetro Transversal (DT), Massa de polpa (MP), Massa de Sementes (MS) e Número de Sementes (NS) para matrizes de *Hancornia speciosa* Gomes.

	REND	PROD	DL	DT	MP	MS	NS
NF	-0,13 ^{ns}	0,85 ^{**}	0,47 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,38 ^{ns}	0,35 ^{ns}
REND	-	-0,17 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,42 ^{ns}	-0,38 ^{ns}
PROD	-	-	0,81 ^{**}	0,68 ^{**}	0,80 ^{**}	0,77 ^{**}	0,63 [*]
DL	-	-	-	0,86 ^{**}	0,85 ^{**}	0,74 ^{**}	0,56 [*]
DT	-	-	-	-	0,94 ^{**}	0,87 ^{**}	0,67 ^{**}
MP	-	-	-	-	-	0,93 ^{**}	0,83 ^{**}
MS	-	-	-	-	-	-	0,83 ^{**}

**Significativo ($p < 0,01$), *Significativo ($0,01 \leq p < 0,05$), ns - Não significativo.

Para os coeficientes de correlação positivos, os menores valores foram verificados para a correlação das variáveis diâmetro longitudinal e número de sementes (0,56) e produtividade estimada e número de sementes (0,63). Enquanto para as variáveis massa da polpa e massa de sementes (0,93), massa de sementes e número de sementes (0,83), verificou-se alta correlação, corroborando com os resultados biométricos, nos quais foi possível verificar que matrizes com maior valor para massa da polpa também apresentaram maior massa de sementes e número de sementes.

As correlações positivas indicam que as duas características são beneficiadas ou prejudicadas pelas mesmas causas de variação, desta forma, a escolha de frutos com menor número de sementes implicaria em menor quantidade de polpa, estas variáveis são relevantes, especialmente, no processamento dos frutos, que é preferível menor massa de sementes e maior de polpa, produto de maior interesse comercial (GONÇALVES et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2014). Visando então a comercialização da mangaba na forma processada de polpa, pode-se escolher entre matrizes com menores frutos mas apresentando um maior rendimento tal como a matriz M14 (0,85 g/fruto) e a matriz M9 que apresentou maior produção (378,68 g) ou as matrizes com os maiores frutos M7 e M11 considerando que a massa da polpa destas matrizes é três vezes maior que a massa de sementes, ambas propiciando também um bom rendimento 0,79 g/fruto.

Para a comercialização dos frutos *in natura*, seria vantajosa a escolha dos maiores frutos, considerando que neste tipo de mercado o tamanho dos frutos juntamente com a coloração são atrativos para os clientes, uma vez que eles associam estas características fenotípicas a frutos maduros e mais saborosos.

As estimativas de correlação podem ser informativas também quando o caráter de interesse é de difícil avaliação e apresenta alta correlação positiva com outro de fácil avaliação, uma vez que são influenciados pelas mesmas causas de variação, logo, com o aumento de um caráter é esperado aumento no outro (FARIAS NETO et al., 2004).

Apesar das variáveis analisadas sofrerem grande influência do ambiente, parte desta variabilidade observada para as matrizes pode está associada à genética, sendo a caracterização física dos frutos de grande importância para a determinação da variabilidade genética (CARVALHO et al., 2003), uma vez que permite a obtenção de informações sobre as matrizes tais como aquelas mais produtivas ou com características de interesse visando ao mercado de fruta fresca, o mercado industrial e magnitude da variabilidade fenotípica, informações que podem dar subsídio para estratégias de conservação e programas de melhoramento genético da espécie.

Para fins de seleção, as matrizes mais interessantes para características relacionadas ao rendimento de frutos são M7, M9, M11 e M14 por apresentarem valores máximos para tamanho dos frutos e massa da polpa.

4.3.2 Caracterização molecular via marcadores ISSR

As matrizes foram analisadas com base em 81 locos polimórficos obtidos de 17 *primers* ISSR. O número ótimo para obter precisão desejada nas análises de diversidade genética, com a espécie em estudo, foi a partir de 71 fragmentos polimórficos. Neste ponto, começou a estabilizar e o estresse (E) assumiu valor de 0,04 e a correlação (r) de 0,98 (FIGURA 4.3).

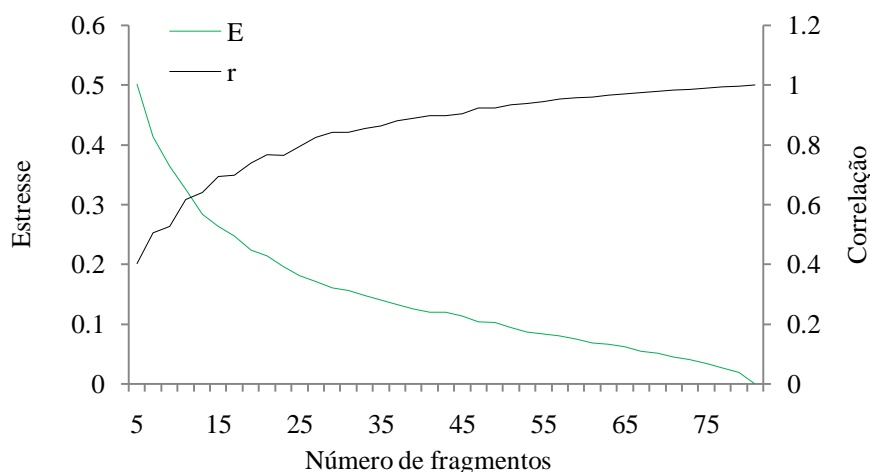


FIGURA 4.3 Estimativa do estresse (E) e correlação (r) para o número de fragmentos polimórficos, obtida com 17 *primers* ISSR para estudo da diversidade genética de matrizes de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em população natural no estado de Sergipe.

Houve relação diretamente proporcional entre o número de fragmentos amplificados e a magnitude de correlação dos valores da matriz de similaridade original, obtida a partir de reamostragem com diferentes números de fragmentos amplificados. Assim, a partir do número ótimo de fragmentos obtidos, o valor do coeficiente de correlação se aproximou do valor máximo, o que comprova a consistência dos dados com o número de *primers* utilizados e o número de fragmentos obtidos, sendo suficientes para as análises de diversidade genética.

Estudos envolvendo a análise dos resultados e a indicação do número mínimo de marcadores contribuem para a otimização do uso dos recursos e tempo, traduzidos em menor número de marcadores representativos da amostragem do genoma para caracterização da diversidade genética (GONÇALVES et al., 2014).

Usando marcadores RAPD em *H. speciosa*, Moura et al. (2005) sugeriram o uso de 26 fragmentos para avaliação consistente da diversidade de seis genótipos de mangaba, enquanto Costa et al. (2011) encontraram que 75 fragmentos foram suficientes para a avaliação da diversidade desta espécie. Freitas (2016) usando marcadores ISSR para o estudo de quatro populações naturais de mangaba em Sergipe obteve 63 fragmentos, valor próximo ao obtido neste trabalho.

Na análise de ISSR, os fragmentos de DNA amplificados apresentaram 60,44% de polimorfismo, o número médio de bandas por *primer* foi de 7,88, o menor número de bandas observadas (2) foi encontrado pela amplificação usando o *primer* M2, e o maior número de bandas (12) foi observado no *primer* UBC 813.

Os resultados encontrados neste estudo para o percentual de polimorfismo e número de bandas, são próximos aos obtidos para populações de mangabeira estudadas por meio de marcadores ISSR em Sergipe, Pernambuco e Rio Grande do Norte, sendo a variação da porcentagem de polimorfismo identificada em diversos estudos variando de 47,62 - 89,25% e número de bandas de 10,5 - 11,5 (FREITAS, 2016; JIMENEZ et al., 2015; COSTA et al., 2015).

O percentual de locos polimórficos é uma informação relevante para estudos que usam marcadores dominantes, como o ISSR, pois é considerado como uma medida de diversidade genética (LORENZONI et al., 2014). Nesse sentido, para o presente estudo verifica-se percentual de polimorfismo moderado, cabe destacar que a mangabeira é espécie alógama e autoincompatível, sendo esperado alto percentual de polimorfismo e, consequentemente, maior diversidade genética observada (PINTO et al., 2008; MOURA et al., 2011).

A similaridade genética média observada para as matrizes foi de 55,29%, o erro padrão médio de 1,34% e a amplitude das similaridades de 26,19 a 76,19% (TABELA 4.5).

TABELA 4.5 Similaridade genética (%) para as 14 matrizes de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) baseada no coeficiente de Jaccard, obtido a partir de 17 *primers* ISSR.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	63	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	60	58	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	57	72	73	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	59	72	70	73	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	53	52	69	56	73	100	-	-	-	-	-	-	-	-
7	47	61	59	70	61	63	100	-	-	-	-	-	-	-
8	51	69	61	72	68	57	67	100	-	-	-	-	-	-
9	44	66	55	69	63	51	65	67	100	-	-	-	-	-
10	42	70	56	67	59	48	58	53	69	100	-	-	-	-
11	47	63	57	65	64	51	50	54	68	75	100	-	-	-
12	49	54	64	64	59	53	56	53	69	61	62	100	-	-
13	39	41	46	50	48	53	50	54	54	39	50	76	100	-
14	26	29	33	29	32	29	28	36	29	31	29	45	49	100

As matrizes de mangabeira mais semelhantes foram M12 e M13 ($76\% \pm 0,013$) e as mais divergentes M1 e M14 ($26\% \pm 0,013$). Estas informações podem ser visualizadas no dendrograma (FIGURA 4.4) obtido pela relação da similaridade genética de Jaccard entre as matrizes. Adicionalmente, verificou-se a formação de quatro grupos distintos, grupo 1: M1,

grupo 2 formado por 10 matrizes (M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 e M9, M10 e M11), grupo 3 (M12 e M13) e o grupo 4: M14.

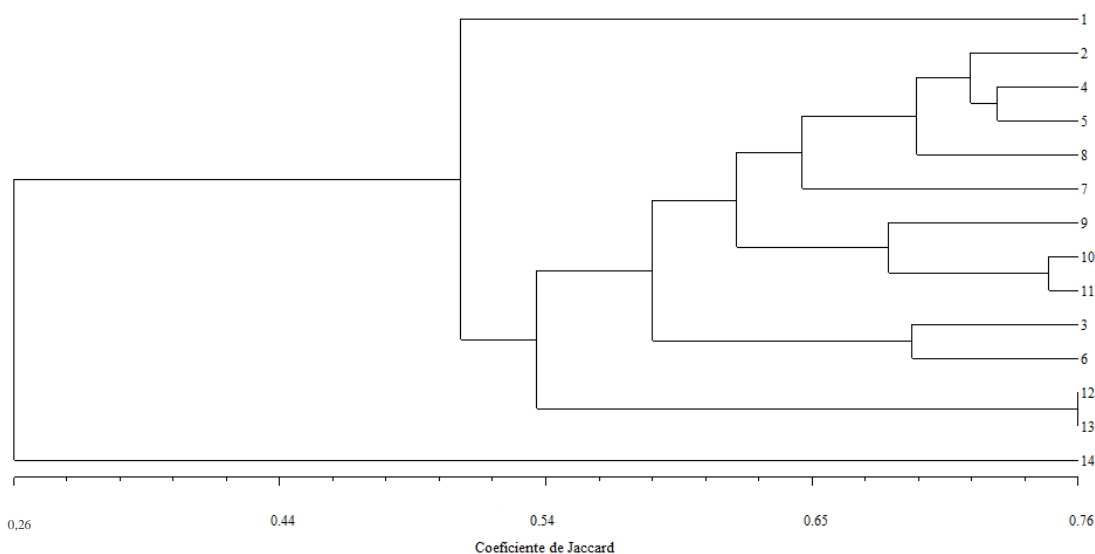


FIGURA 4.4 Dendrograma gerado pelo método UPGMA, baseado na similaridade de Jaccard, para 14 matrizes de mangabeira, obtido a partir de 17 *primers* ISSR.

A matriz M1 foi agrupada separadamente das demais, o mesmo ocorreu para a matriz M14, essa distância genética indica variação genética que esses indivíduos estão sujeitos devido a fragmentação das áreas de ocorrência natural. Pode estar associada também ao tipo de sistema reprodutivo da mangabeira, que reduz a perda de pólen, evita a autogamia e favorece a polinização cruzada (DARRAULT; SCHLINDWEIN, 2005). Nesta última, ocorre a recombinação de genes de diferentes plantas favorecendo assim o surgimento de novas combinações gênicas e maior diversidade.

Para a mangabeira, espécie alógama e autoincompatível, é imprescindível a presença de indivíduos geneticamente diferentes na população, bem como a presença de polinizadores para que ocorra a polinização cruzada. Estes indivíduos mais divergentes são importantes também na escolha de matrizes para a coleta de sementes visando o enriquecimento de populações naturais ou recuperação de áreas degradadas, uma vez que vão contribuir para a manutenção da diversidade genética.

Para o método de agrupamento ACoP, gerou-se um gráfico bidimensional (FIGURA 4.5). Empregando-se o primeiro e segundo componentes fornecidos pela análise, que explicam 31,38% de variação das matrizes, com 17,29 (eixo 1) e 14,09% (eixo 2).

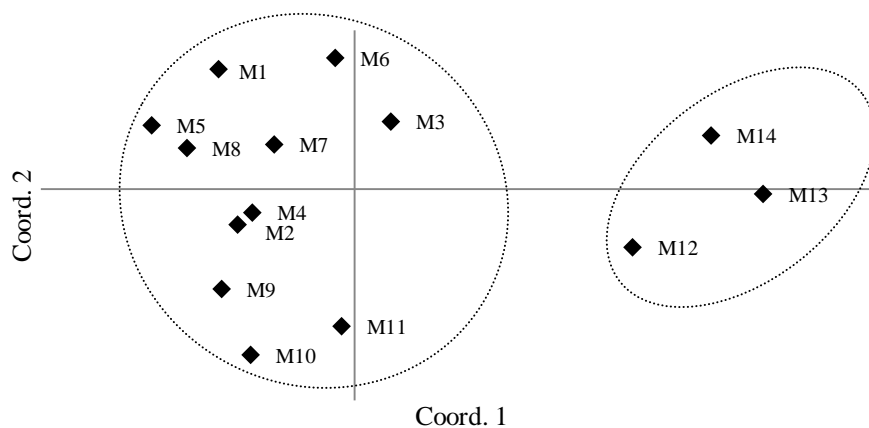


FIGURA 4.5 Análise de Coordenadas Principais (ACoP) para 14 matrizes de mangabeira (*Hancornia speciosa*) de população natural de Sergipe.

Com o agrupamento ACoP verificou-se a formação de dois grupos, sendo as matrizes M12, M13 e M14 (grupo 2) agrupadas isoladas das demais que juntas formaram o grupo 1 (M1, M2, M3 M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10 e M11). O agrupamento ACoP reforçou o posicionamento das matrizes próximas agrupadas anteriormente pelo método UPGMA, porém adicionou ao grupo a M1 que estava em um grupo isolado, o mesmo ocorreu para a matriz 14 que passou a compor o segundo grupo juntamente com as matrizes 12 e 13.

Considerando as diferenças de hierarquização, otimização e ordenação dos grupos é importante o emprego de diferentes métodos de análise, pois além de se complementarem, impedem que inferências errôneas sejam adotadas na formação dos agrupamentos (ARRIEL et al., 2006). A formação de grupos distintos indica a existência de diversidade genética entre as matrizes estudadas, o conhecimento da variabilidade genética das populações naturais permite entre outros, inferir sobre a sustentabilidade da população, pois espécies ameaçadas e inseridas em populações muito fragmentadas tendem a apresentar menor diversidade genética, constituindo-se uma importante ferramenta no estudo de espécies pertencentes a populações naturais que sofrem pressão antrópica, assim como a mangabeira, uma vez que pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias de conservação, bem como para o melhoramento genético considerando que a mangabeira apresenta grande potencial produtivo.

Foram obtidos o número de alelos observados ($na = 2,0$) e o número efetivo de alelos ($ne = 1,71$), ambos informam sobre a diversidade alélica e são usados para caracterizar a diversidade genética, outras duas importantes medidas de diversidade são a heterozigosidade, avaliada por meio da diversidade genética de Nei que correspondeu a $\hat{H}_e = 0,40$ e o índice de Shannon ($I = 0,58$), considerado uma boa ferramenta para o uso de marcadores dominantes no estudo de diversidade e que quanto mais próximo de um for o valor obtido, maior é a diversidade (DAWSON et al., 1995). Estes valores quando comparados com outros estudos foram semelhantes aos obtidos com marcadores dominantes ISSR em populações naturais de *H. speciosa* da mesma região, sendo $na = 1,99$, $ne = 1,61$, $\hat{H}_e = 0,37$ e $I = 0,53$ (FREITAS, 2016).

A diversidade genética e o Índice de Shannon verificados neste estudo foram superiores ao de populações do Rio Grande do Norte, sendo $\hat{H}_e = 0,18$ e $I = 0,26$ (COSTA et al., 2015), para populações de Sergipe I de 0,29 - 0,45 e \hat{H}_e de 0,20 a 0,31 (SILVA et al., 2017) e para populações de mangabeira dos estados de Pernambuco e Alagoas estudadas por marcadores diferentes, tais como o RAPD, foi $\hat{H}_e = 0,17$ (COSTA et al., 2011) e por isoenzimas, correspondendo a $\hat{H}_e = 0,36$ (MARTINS et al., 2012).

A caracterização molecular permitiu detectar diversidade genética moderada para as matrizes, considerando o percentual de locos polimórficos e os valores obtidos para a heterozigosidade e o índice de Shannon.

Considerando o agrupamento pelo método UPGMA e a ACoP, a M14 que apresentou os menores valores na análise biométrica, juntamente com as matrizes M5 e M6 e apresentam 32% de similaridade genética, não foram agrupadas juntas. As matrizes M7 e M11, que apresentaram 50% de similaridade genética e os maiores valores para as variáveis biométricas foram alocadas no mesmo agrupamento, que há também outras matrizes a exemplo das M5 e M6. Na ACoP, a matriz M14 que apresenta 45 e 49% de similaridade com as matrizes M12 e M13, foram agrupadas juntas, para as características biométricas avaliadas nos frutos estas três matrizes também apresentaram a maior variação. Portanto, cabe destacar que as características dos frutos avaliadas por marcadores morfológicos sofrem demasiada influência ambiental, enquanto que marcadores moleculares não, porém, estas técnicas de caracterização se complementam.

O alinhamento das informações obtidas com marcadores morfológicos mesmo estes sofrendo influência ambiental com os marcadores moleculares permitem identificar entre outros, a sustentabilidade da população, as matizes mais produtivas, mais próximas geneticamente e as mais divergentes, informações que irão auxiliar na tomada de decisão para a definição de estratégias para a conservação e melhoramento da espécie.

4.4 Conclusões

As matrizes apresentam alta variabilidade para os caracteres biométricos e diversidade genética moderada.

As matrizes M7, M9, M11 e M14 destacam-se como as de maior potencial para a utilização com base em caracteres de tamanho e massa dos frutos.

A população em questão poderá ser usada para a obtenção de propágulos, a serem empregados no estabelecimento de testes de progênes.

4.5 Referências Bibliográficas

AIBA - Associação dos Irrigantes do Oeste da Bahia. Região Oeste da Bahia - Safra 2004. Informativo.

ALVARES C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M., SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, p. 711-728, 2014.

ARAÚJO, I. A., FERREIRA, E. G., SOARES, K. T., & FONTINÉLLI, I. S. C. Características Físicas de Frutos da Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) Cultivada na Zona da Mata Paraibana. **I Simpósio Brasileiro Sobre a Cultura da Mangab, Aracaju, Sergipe**, 2009. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_2/Mangabeira/>. Acesso em: 13 nov. 2017.

ARRIEL, N. H. C.; DI MAURO, A. O.; DI MOURA, S. M. Z.; BAKKE, O. A.; UNÊDA-TREVISOLI, S. H.; COSTA, M. M. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.5, p.801-809, 2006.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Ed. UFV. 2009. 529 p.

CARVALHO, J. E. U.; NAZARÉ, R. F. R.; LIVEIRA, W. M. Características físicas e físico-químicas de um tipo de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) com rendimento industrial superior. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, p. 326-328, 2003.

COSTA, D. F. D., VIEIRA, F. D. A., FAJARDO, C. G., & CHAGAS, K. P. T. D. Diversidade genética e seleção de iniciadores ISSR em uma população natural de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 4, p. 970-976, 2015.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 648 p.

DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Limited Fruit Production in *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) and Pollination by Nocturnal and Diurnal Insects. **Biotropica**, v. 37, n. 3, p. 381— 388, 2005.

DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Polinização. In: SILVA JUNIOR, J. F.; LEDO, A. S. (Org.). **A cultura da mangabeira**. Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 43-56.

DAWSON, I. K.; SIMONS, A. J.; WAUGH, R.; POWELL, W. Diversity and genetic differentiation among subpopulations of *Gliricidia sepium* revealed by PCR-based assays. **Heredity**, v. 74, p. 10-18, 1995.

FARIAS NETO, J. T.; CARVALHO, J. U. E; MULLER, C. H. Estimativas de correlação e repetibilidade para caracteres do fruto de bacurizeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 2, p. 300-305, 2004.

- FERREIRA, E. G.; MARINHO, S. J. O. Produção de frutos de Mangabeira para consumo *in-natura* e industrialização. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 1, n. 1, p. 9-14, 2007.
- FREITAS, B. A. L. de. **Conhecimento local, diversidade morfogénética como subsídios para conservação da mangaba**. 2016. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, 2016.
- FREITAS, M. K. C.; COIMBRA, R. R.; AGUIAR, G. B.; AGUIAR, C. B. N.; CHAGAS, D. B.; MELLO FERREIRA, W. M.; OLIVEIRA, R. J. Variabilidade fenotípica e caracterização morfológica de uma população natural de *Hancornia speciosa* Gomes. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 5, p. 833-841, 2012.
- GONCALVES, L. O.; PINHEIRO, J. B.; ZUCCHI, M. I.; SILVA-MANN, R. Genetic characterization of the coral tree (*Erythrina velutina* Willd.) in areas of low occurrence. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 2, p. 290- 298, 2014.
- GONÇALVES, L. G. V.; ANDRADE, F. R.; JUNIOR, M.; HUR, B.; SCHOSSLER, T. R.; LENZA, E.; MARIMON, B. S. Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em vegetação natural na região leste de Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 36, n. 1, p. 31-40, 2013.
- JIMENEZ, H. J.; MARTINS, L. S. S.; MONTARROYOS, A. V. V.; SILVA JUNIOR, J. D.; ALZATE-MARIN, A. L.; MORAES FILHO, R. M. Genetic diversity of the neotropical tree *Hancornia speciosa* Gomes in natural populations in northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 17749-17757, 2015.
- KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B. Restauração, conservação genética e produção de sementes. In: SIMPÓSIO MATA CILIAR: CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 1999, Belo Horizonte. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1999. p. 59-68.
- KRUSKAL, J. B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, v. 29, n. 1, p. 1-27, 1964.
- LORENZONI, R. M.; SOARES, T. C. B.; SANTIAGO, V. F.; SILVA, J. A.; COELHO, R. I. Utilização de marcadores ISSR na avaliação da divergência genética entre acessos de biribazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n.1, p. 251-257, 2014.
- MARTINS, G. V.; MARTINS, L. S. S.; VEASEY, E. A.; LEDERMAN, I. E.; SILVA, E. F. D. Diversity and genetics structure in natural populations of *Hancornia speciosa* var. *speciosa* Gomes in northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 4, p. 1143-1153, 2012.
- MOURA, N. F.; CHAVES, L. J; VENCovsky, R.; NAVES, R. V.; AGUIAR, A. V.; MOURA, M. F. Genetic structure of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) populations in the cerrado region of central Brazil. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v. 27, n. 3, p. 473-481, 2011.
- MOURA, N. F.; CHAVES, L. J.; VENCovsky, R.; ZUCCHI, M. I.; PINHEIRO, J. B.; MORAIS, L. K.; MOURA, M. F. Seleção de marcadores RAPD para o estudo da estrutura genética de populações de *Hancornia speciosa* Gomez. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v. 21, n. 3, 2005.

- NASCIMENTO, R. S.; CARDOSO, J. A.; COCOZZA, F. D. Caracterização física e físico-química de frutos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) no oeste da Bahia. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 8, p. 856–860, 2014.
- NIENHUIS, J. et al. Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Madison, v. 120, n. 2, p. 300-306, 1995.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p. 2537-2539, 2012.
- PINTO, C. E.; OLIVEIRA, R.; SCHLINDWEIN, C. Do consecutive flower visits within a crown diminish fruit set in mass-flowering *Hancornia speciosa* (Apocynaceae)? **Plant Biology**, v.10, n. 3, p. 408-412, 2008.
- ROHLF, F. J. NTSYS pc: Numerical Taxonomy System, ver. 2.20. **Exeter Publishing Ltd.**: Setauket, NY. 2008.
- SEPLAG- **Secretaria de Planejamento do Estado**. 2011. Sergipe em Dados- Caracterização do Território. Disponível em: http://www.se.gov.br/index/leitura/id/725/Caracterizacao_do_Territorio.htm. Acesso em: 15 dez. de 2017.
- SILVA, A. C. C. D.; SANTOS, E. A. P. **Ministério do Meio Ambiente** - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (2010): 36 p. (Relatório Técnico). Proposta de Retificação e Atualização dos Limites da Reserva Biológica de Santa Isabel, no Estado de Sergipe.
- SILVA, A. V. C. D.; AMORIM, J. A. E.; VITÓRIA, M. F. D.; LEDO, A. D. S.; RABBANI, A. R. C. Characterization of trees, fruits and genetic diversity in natural populations of mangaba. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 41, n. 3, p. 255-262, 2017.
- SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical Taxonomy: the principles and practice of numerical classification**. W. H. Freeman, San Francisco, 1973.
- SOARES, A. N. R.; VITÓRIA, M. F.; NASCIMENTO, A. L. S.; LEDO, A. D. S.; RABBANI, A. R. C.; SILVA, A. V. C. Genetic diversity in natural populations of mangaba in Sergipe, the largest producer State in Brazil. **Genetic and Molecular Research**, v. 15, n. 3, p. 1-12, 2016.
- SOARES, F. P., PAIVA, R., CAMPOS, A. C. A. L., PORTO, J. M. P., NOGUEIRA, R. C., & STEIN, V. C. Germinação de sementes de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 1180-1182, 2007.
- VIEIRA NETO, R. D.; SILVA JUNIOR, J. F. da; LEDO, A. da S. Mangaba. In: SANTOS; SEREJO, J. A. dos; DANTAS, J. L. L.; COELHO, C. V. S.; COELHO, Y. S. (Org.). **Fruticultura Tropical espécies regionais e exóticas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 323- 338. 2009.

VIEIRA, F. A.; GUSMÃO, E. Biometria, armazenamento de sementes e emergência de plântulas de *Talisia esculenta* Radlk (Sapindaceae). **Ciência e Agrotécnica**, Lavras, v. 32, p. 1073-1079, 2008.

WANJUI, J. Biodiversity Conservation Needs and Method to Conserve the Biological Diversity. **Journal of Biodiversity Endanger Species**, v. 1, p. 113, 2013.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 1996.

5. ARTIGO 2

INTEGRIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MANGABA OBTIDAS POR DIFERENTES MÉTODOS DE BENEFICIAMENTO

Periódico submetido (ou a ser submetido): Revista Caatinga

RESUMO

Para se obter sementes de espécies nativas com frutos carnosos como os da mangabeira, na maioria das vezes é um processo demorado e requer beneficiamento manual. Por outro lado existem processos mais rápidos, como o beneficiamento mecânico de frutos para sucos, no qual se obtém as sementes, que podem ser usadas para a produção de mudas, caso apresentem integridade física e qualidade fisiológica. Assim, objetivou-se avaliar o efeito do beneficiamento na qualidade física e fisiológica de sementes de mangaba. Os lotes obtidos dos diferentes beneficiamentos foram secos por 24 h a 25 °C e em seguida analisados quanto à qualidade física e fisiológica. Empregando-se o teor de água, a biometria, peso de mil sementes, teste de raios X, condutividade elétrica, teste de germinação, primeira contagem, comprimento e massa seca de plântulas. O peso de mil sementes correspondeu a 254,25 g, para a biometria foram observados valores médios de comprimento de 9,98 mm, largura de 8,21 mm e espessura de 3,97 mm. A integridade física avaliada por meio das imagens radiográficas, permitiu a classificação das sementes quanto ao desenvolvimento do embrião e a ocorrência de danos, sendo as sementes obtidas do beneficiamento manual as que apresentaram maior densidade. Independente do método de beneficiamento utilizado, não houve diferenças quanto ao teor de água, germinação, primeira contagem e comprimento e massa seca de plântulas, mas, a condutividade elétrica foi melhor para as sementes beneficiadas mecanicamente. Os métodos de beneficiamento utilizados não afetam a germinação das sementes de mangaba.

Palavras-chave: *Hancornia speciosa*, qualidade de sementes, raios X.

ABSTRACT**THE PHYSICAL AND PHYSIOLOGICAL INTEGRITY OF THE MANGABA SEEDS OBTAINED BY DIFFERENT METHODS OF PROCESSING**

In order to obtain the seeds of native species with fleshy fruits, such as the mangabeira, most of the time, it is a time consuming process and it requires a manual processing of the fruits. On the other hand, there are faster processes, such as the mechanical processing of fruits, in order to make juice, from which the seeds are able to be obtained. These seeds can be used for the production of seedlings, if they present a physical integrity and a physiological quality. The objective of this study was to evaluate the effects of beneficiation on the physical and physiological qualities of mango seeds. The batches that were obtained from the different treatments were dried for 24 hours at 25 °C and then analyzed for their physical and physiological qualities. Their water content, their biometrics, their weight for a thousand seeds, X-ray tests, their electrical conductivity, their germination, their first counting, together with the seedling's length and the dry mass of the seedlings, were all evaluated. The weight of one thousand seeds corresponded to 254.25 g. It was observed that for their biometrics, the average values of their length were 9.98 mm, their width was 8.21 mm and their thickness was 3.97 mm. Their physical integrity was evaluated by means of radiographic images and this allowed for the classification of the seeds in terms of their embryonic development and for the occurrences of damage. The seeds that were obtained from the manual processing operations were the ones with the highest density. Regardless of the treatment method used, there were no differences in their water content, their germination, their first counting and the length and dry mass of seedlings. However, their electrical conductivity was better for the mechanically processed seeds. The processing methods did not affect the germination of the mangaba seeds in any way.

Key words: *Hancornia speciosa* Gomes, seed quality, X-rays

5.1 Introdução

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma espécie arbórea nativa do Brasil com ampla distribuição pelo país, que vem despertando interesse econômico e científico devido ao seu potencial frutífero e farmacológico (ALMEIDA et al., 2016). A espécie é encontrada em áreas naturais dos tabuleiros costeiros, baixadas litorâneas e cerrado, seus frutos são obtidos pelo extrativismo em áreas remanescentes e os poucos plantios comerciais existentes estão na Região Nordeste (SOARES et al., 2006). Nesta região, destaca-se o estado de Sergipe como o maior produtor de frutos até o ano de 2015, com 219 toneladas, correspondendo com 33% da produção nacional para o referido ano (IBGE, 2017).

Ainda que estudos científicos recentes tenham demonstrado o grande potencial farmacológico desta espécie (PEREIRA et al., 2015; FLORIANO et al., 2016) e da crescente demanda por seus frutos *in natura* ou processados na forma de polpas, sorvetes, licores e geleias, a espécie ainda está em fase de domesticação (YOKOMIZO et al., 2017) e a obtenção dos seus coprodutos se dá em grande parte do Brasil pelo extrativismo, sistema que já não atende a demanda e inviabiliza o beneficiamento da fruta em larga escala (BESSA et al., 2013; SOARES et al., 2015).

A sua propagação ocorre principalmente por sementes, que são recalcitrantes e perdem rapidamente a viabilidade por sua baixa tolerância a dessecação (VIEIRA NETO et al., 2009). As informações sobre o beneficiamento, a qualidade das sementes e a produção de mudas são limitadas. Quanto à análise da qualidade de sementes de mangaba, normalmente é realizado o teste de germinação, que se inicia no 12º dia e estende-se até o 41º dia após semeadura (VIEIRA et al., 2015).

A integridade física das sementes pode ser avaliada por meio da análise de imagens, pela técnica de raios X, que é recomendada pela *International Rules For Seed Testing Association* (ISTA) e pelas Regras para Análise de Sementes (RAS), método promissor na análise de espécies agrícolas e florestais (BRASIL, 2009; SILVA et al., 2014; MARCHI et al., 2017) por não ser destrutivo (MENEZES et al., 2005; SILVA et al., 2014). Consiste na incidência da radiação de baixa energia sobre as sementes, gerando imagens radiográficas, que são utilizadas para avaliação das estruturas internas e a identificação de danos físicos (ISTA, 2009).

A interpretação da análise de raios X e sua comparação com os resultados de testes de germinação permitem associar a integridade de partes vitais da semente ao seu potencial fisiológico (PINTO et al., 2009). O desenvolvimento dessa técnica em sementes também permite prever a ocorrência de plântulas anormais pela comparação entre a análise de imagens e a observação das anormalidades pelo teste de germinação (MONDO; CÍCERO, 2005). Sendo importante o uso dos testes e técnicas da tecnologia de sementes na identificação de novas fontes viáveis de propágulos para a produção de mudas de mangabeira, visando não somente o enriquecimento das áreas de ocorrência natural da espécie, mas a recuperação de áreas degradadas e o estabelecimento de plantios comerciais.

Assim, objetivou-se avaliar o efeito do beneficiamento na qualidade física e fisiológica de sementes de mangaba.

5.2 Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida utilizando-se frutos maduros (fruto com casca amarelada a avermelhada, estrias avermelhadas e com textura macia) que foram submetidos a dois processos de beneficiamento: a) manual (remoção da polpa com água e fricção do fruto em peneira); e b) mecânico (remoção da polpa por despoldadeira mecânica). Após despoldar, as sementes foram colocadas para secar a 25 °C por 24 horas, para eliminação do excesso de água.

As sementes foram submetidas à análise da qualidade física por meio da determinação do teor de água, biometria, peso de mil sementes e teste de raios X. Para avaliação da qualidade fisiológica empregou-se o teste de germinação, primeira contagem, condutividade elétrica, comprimento e massa seca de plântulas.

A determinação do teor de água foi realizada pelo método da estufa a 105 ± 3 °C durante 24 horas, em duplicata de 10 g, de acordo com as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem com base no peso úmido.

Para avaliação do peso de mil sementes empregou-se 8 repetições de 25 sementes e pesagens em balança analítica em gramas, procedeu-se com cálculo segundo critérios estabelecidos pelas RAS (BRASIL, 2009).

Para a biometria mediu-se o comprimento, a largura e a espessura de 200 sementes com auxílio de um paquímetro digital (Messen) com precisão de 0,01 mm, e os resultados expressos em milímetros.

No teste de raios X as sementes foram fixadas em fita adesiva transparente dupla face aderida a uma folha de transparência e submetidas à análise radiográfica para obtenção das imagens. A intensidade de radiação (25 kv) e o tempo de exposição (5 segundos) foram determinados pela calibração automática do equipamento Faxitron X-ray Corp modelo HP MX-20. As imagens radiográficas foram analisadas em equipamento de captura e visualizadas de forma digital. Por meio dessas imagens foram definidas classes de acordo com a morfologia interna das sementes. A interpretação dos resultados foi realizada pela comparação entre a análise das imagens radiográficas das sementes e os resultados de germinação e análise de pixels pelo programa ImageJ (ABRÀMOFF et al., 2004).

No teste de germinação, após o teste de raios X as sementes foram distribuídas em rolos de papel germitest, umedecido com 2,5 vezes seu peso seco com água destilada, e posteriormente mantidas em incubadora do tipo B.O.D. a 25 °C, com fotoperíodo de 12h L. Cada semente usada no teste de raios X teve a sua posição identificada no teste de germinação. A primeira contagem foi realizada no vigésimo quinto dia e a última aos trinta e cinco dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Avaliou-se o comprimento de plântulas empregando oito repetições de 15 plântulas normais formadas ao vigésimo quinto dia do teste de germinação utilizando-se régua centimétrica. Os resultados médios das plântulas foram expressos em centímetros. As mesmas plântulas foram empregadas para determinação da massa seca. As repetições de cada lote foram acondicionadas em sacos de papel, identificados e levados à estufa com circulação de ar forçada e mantidas à 80 °C por 24 horas (NAKAGAWA, 1999). Após este período, determinou-se a massa para cada repetição em balança com precisão de 0,001g, o valor obtido foi dividido pelo número de plântulas utilizadas obtendo-se os dados em mg/plântula (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999).

Para o teste de condutividade elétrica em massa, as sementes foram previamente pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g, colocadas em copos plásticos contendo 75 mL de água ultrapura e mantidas em incubadora do tipo B.O.D. a 25 °C por 24 horas (BRANDÃO JUNIOR et al., 1997). A condutividade elétrica foi determinada em condutivímetro Digimed (CD-20), com resultados expressos em $\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado (DIC) com oito repetições de 25 sementes, com exceção para o teor de água (2 amostras de 10 g) e comprimento e massa de plântulas (15 plântulas). As variáveis analisadas foram testadas quanto à distribuição normal de acordo com o teste de Shapiro-Wilk, quando necessário os resultados foram transformados de acordo com o tipo de variável utilizada. Os dados foram submetidos à análise de variância por meio do teste F e as médias foram analisadas pelo teste *t* de Student a 5% de probabilidade.

5.3 Resultados e Discussão

As sementes de mangaba possuem uma forma ovalada e achatada, com coloração marrom-claro e hilo central. O peso de mil sementes correspondeu a 254,25 g e seus valores médios de comprimento, largura e espessura foram 9,98 mm, 8,21 mm e 3,97 mm, respectivamente (TABELA 5.1).

TABELA 5.1. Biometria de sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) obtidas o beneficiamento mecânico.

Parâmetros	Comprimento	Largura	Espessura
	----- mm -----		
Máximo	10,49	10,05	5,38
Mínimo	8,13	5,88	0,74
Média	9,98	8,21	3,97
Desvio padrão	0,53	1,24	0,74

Os resultados foram semelhantes aos obtidos por Gonçalves et al. (2013) para sementes de mangaba coletadas no estado do Mato Grosso, com comprimento, largura e espessura e massa de mil sementes correspondentes a 9,43 mm, 7,45 mm e 3,42 mm e 268,38 g, respectivamente.

A diferença do tamanho de sementes dentro de uma espécie está relacionada com as variações do ambiente onde está a planta-mãe. A limitação do recurso de energia devido à temperatura, estrutura do solo, irradiação solar e outros fatores ambientais, fazem com que a planta-mãe produza sementes de tamanho variado, o que poderá promover diferenças nas respostas de germinação da espécie (BASKIN e BASKIN, 1998; FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Para a espécie *Eugenia dysenterica* com características de recalcitrância, assim como a mangabeira, foi constatado que as sementes maiores possuíam maior velocidade de emergência, altura e número de folhas (NIETSCHKE et al., 2004). Verificou-se ainda que sementes grandes de *E. dysenterica* obtidas de frutos coletados no solo são mais vigorosas e que no processo de produção de mudas, a separação das sementes em diferentes tamanhos pode ser utilizada para seleção de materiais com uniformidade no vigor (DUARTE et al., 2008).

A biometria de sementes pode ainda ter valor no diagnóstico para diferenciar a espécie dentro do gênero (PEREIRA; FERREIRA, 2017). Salienta-se que para as sementes de mangaba ainda não foi possível estabelecer tais correlações em função da grande variação no tamanho das sementes dentro da espécie e muitas vezes na mesma árvore e informações acerca da ploidia da espécie, são limitadas, o que poderia explicar parte da variação.

Por meio dos resultados obtidos com a análise das sementes oriundas do beneficiamento manual e mecânico, foi possível verificar diferenças significativas para a condutividade elétrica (TABELA 5.2).

TABELA 5.2 Resumo da Análise de Variância (ANAVA) para a avaliação de sementes beneficiadas pelo processo manual e mecânico.

Variáveis	CV (%)	QM	F
Teor de água	1,27	0,90	0,30 ^{ns}
Porcentagem de germinação	11,70	100,0	0,32 ^{ns}
Primeira contagem	11,70	100,0	0,32 ^{ns}
Comprimento da parte aérea	11,96	0,39	0,40 ^{ns}
Comprimento da raiz	9,75	2,53	0,24 ^{ns}
Massa seca de plântulas	5,64	0,00	0,01 [*]
Condutividade elétrica	9,19	93,12	0,00 [*]

*Significativo e ns – não significativo a 5% ($p < 0,05$).

Nos processos de beneficiamento, as sementes continham teor de água acima de 50%. Na literatura são relatados teores de água para as sementes de mangaba variando de 48% a 56% (MASETTO et al., 2016; SANTOS et al., 2010).

Para que as sementes de mangaba permaneçam viáveis, o elevado teor de água é de fundamental importância devido a sua recalcitrância, entretanto, durante a realização do teste de raios X, o conteúdo de água nas sementes é uma variável a ser ponderada, considerando sua influência na qualidade das imagens radiográficas. Quanto maior for esse conteúdo menor será a qualidade das imagens (SILVA et al., 2014). Assim, se faz necessário para uso do teste em sementes recalcitrantes um equilíbrio, em que o teor de água das sementes permita a obtenção das imagens sem comprometer a viabilidade.

A aplicação do teste de raios X em estudo com sementes recalcitrantes de *E. dysenterica*, permitiu estabelecer relação direta entre o aumento do espaço livre dentro das sementes, ocasionado em função do decréscimo do conteúdo de água e detectado pelas imagens radiográficas, com a diminuição no surgimento de plântulas durante a germinação (SILVA et al., 2017).

De acordo com as imagens radiográficas, as sementes oriundas dos métodos de beneficiamento foram divididas em duas categorias: sementes cheias aquelas que apresentam boa formação do embrião e não foram verificados espaços vazios, sendo 93% das sementes obtidas do beneficiamento manual e 91% do beneficiamento mecânico, inseridas nesta categoria; e sementes com danos nas quais foram verificados espaços vazios, sendo 7% (manual) e 9% (mecânico) inseridas nesta categoria (FIGURA 5.1).

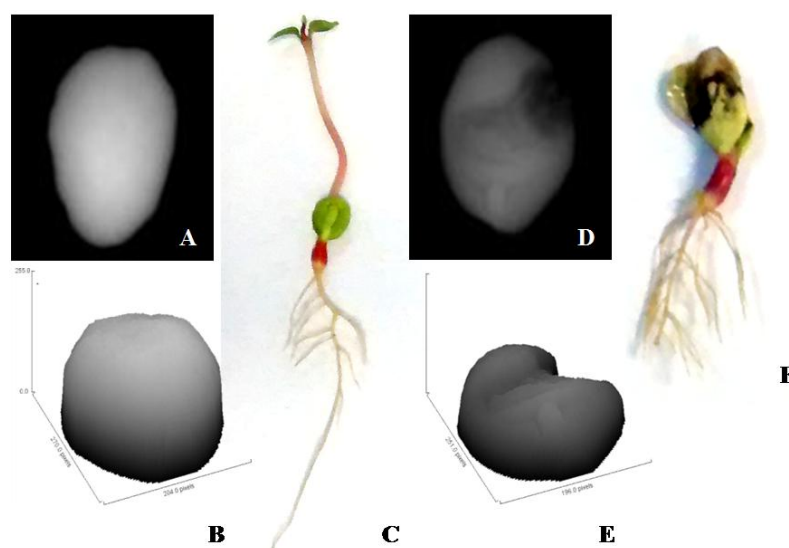


FIGURA 5.1 Imagem radiográfica de semente classificada como cheia (A), gráfico tridimensional (B), plântula normal (C), semente com dano (D), gráfico tridimensional (E) e plântula anormal (F) de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes).

Relacionando as imagens radiográficas com o teste de germinação, percebe-se que para os dois métodos de beneficiamento as sementes duras ou mortas, observadas no teste de germinação, estavam inseridas na categoria de sementes com danos identificadas pelo teste de raios X. Do mesmo modo, sementes identificadas como cheias pelas imagens radiográficas formaram plântulas normais durante a germinação (FIGURA 5.2).

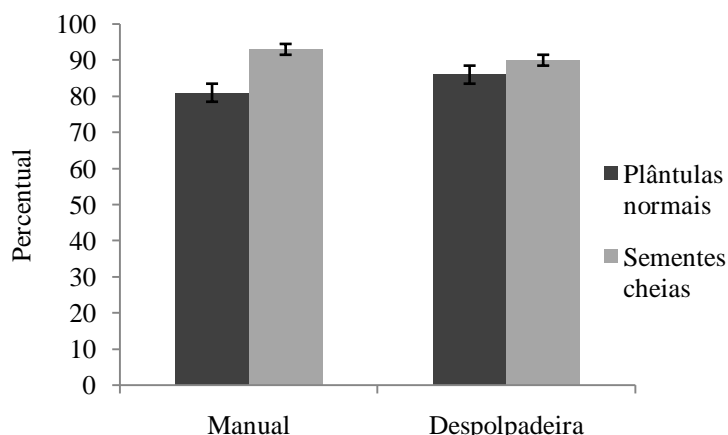


FIGURA 5.2 Percentual de plântulas normais na germinação e sementes cheias identificadas pelos raios X para sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) obtidas do beneficiamento manual e mecânico.

Relacionando as diferentes classes do teste de germinação com a densidade de pixel obtida pela análise das imagens radiográficas das sementes, verificou-se que sementes beneficiadas manualmente apresentaram maior densidade para todas as classes analisadas. Percebe-se também que independente do método de despolpa, para os maiores valores na densidade ocorre a formação de plântulas normais (FIGURA 5.3).

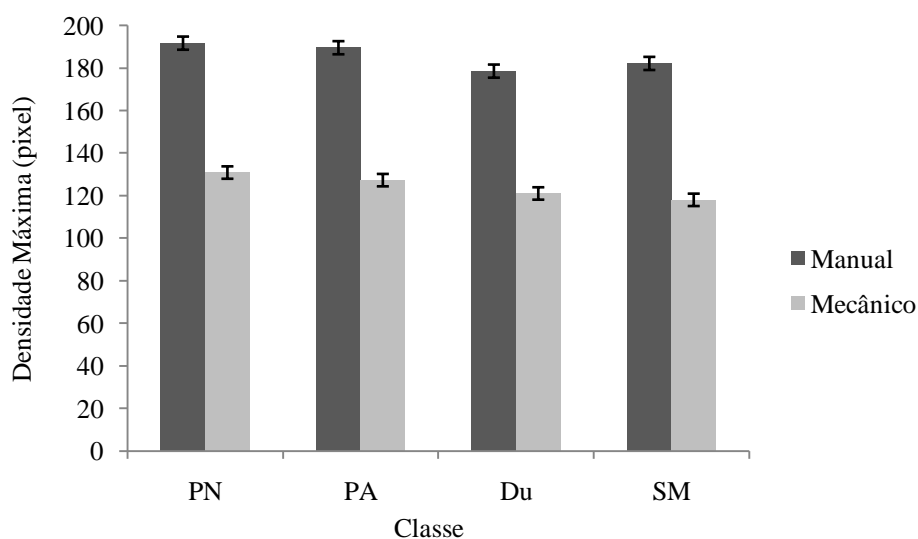


FIGURA 5.3 Densidade média de pixels para sementes mortas (SM), duras (Du), plântulas anormais (PA) e plântulas normais (PN) de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) obtidas do beneficiamento manual e mecânico.

Estes dados indicam que a densidade de pixel observada para cada semente pode está associada com a formação de plântulas normais, assim para os maiores valores de densidade é esperada a formação de plântulas normais.

A eficiência do teste de raios X no estudo da morfologia interna das sementes de espécies arbóreas vem sendo relatada em diversos estudos, tais como, a avaliação dos efeitos da predação de *Callosobruchus maculatus* sobre a germinação e vigor de sementes de *Pityrocarpa moniliformis* (CORREA et al., 2017). Foi possível verificar anormalidades embrionárias em sementes de *Terminalia argentea* (GOMES et al., 2014) e a relação das imagens radiográficas com o potencial fisiológico das sementes de *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo (AMARAL et al., 2011).

Considerando a relação verificada entre o percentual de sementes cheias, identificadas pelos raios X e a formação de plântulas normais no teste de germinação, o teste de raios X mesmo não fornecendo informações sobre a qualidade fisiológica das sementes permite a separação e identificação de sementes dentro dos lotes aptas para a formação de plântulas normais e, portanto, vem como uma alternativa rápida e eficiente a ser empregada no estudo da qualidade de lotes de sementes de mangaba.

Os valores médios para a qualidade fisiológica das sementes de mangaba estão descritos na Tabela 5.3. É possível observar que, independentemente do método de despolpa, os percentuais de germinação foram altos, e conforme esperados para espécies arbóreas nativas, com valores acima de 80%.

TABELA 5.3 Média e *p*-valor (teste t de Student) para comparação dos resultados obtidos em função do beneficiamento manual e mecânico para as variáveis germinação (%G), primeira contagem (PG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca de plântulas (MSP) e condutividade elétrica (CE) para sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes).

Despolpa	%G	PC	CPA (cm)	CR (cm)	MSP (mg)	CE ($\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$)
Manual	81	81	5,9	13,1	0,089	12,4
Mecânica	86	86	6,2	13,9	0,096	7,5
<i>p</i> -valor ¹	0,3234 ^{ns}	0,3234 ^{ns}	0,4006 ^{ns}	0,2469 ^{ns}	0,0167 [*]	0,0000 [*]

¹Teste t de Student. *Médias diferem (na coluna) ao nível de 5% de probabilidade. ns - não significativo, médias não diferem.

Para a obtenção de elevados percentuais de germinação quando se trabalha com sementes recalcitrantes, entre os fatores a se considerar, tem-se necessidade de um período curto entre o beneficiamento e a semeadura, além da completa remoção da polpa, que contém compostos fenólicos que inibem a germinação (SOARES et al., 2008). Nesse sentido, o beneficiamento mecânico é uma opção a ser considerada por apresentar germinação que não se diferencia estatisticamente do manual com a vantagem da obtenção mais rápida das sementes.

Não houve diferença na primeira contagem para os dois métodos de beneficiamento das sementes de mangaba e em ambos houve alta porcentagem aos vinte e cinco dias, acima de 80%. Na literatura tem sido relatada variação para sementes de mangaba avaliadas aos 35 dias, para as quais se verificou 67% de plântulas normais quando não passam pelo processo de secagem e apenas 9% para sementes após 144 horas de secagem (SANTOS et al., 2010). Essa diferença pode estar associada entre outros fatores, com o vigor dos lotes, sendo que os lotes avaliados neste estudo são considerados mais vigorosos, uma vez que apresentaram maior percentual de plântulas normais na primeira contagem e em menor período.

A rápida germinação é uma vantagem para o estabelecimento das plântulas em condições de campo (PARSONS, 2012) e é uma característica da maioria das espécies recalcitrantes, que também apresentam o tegumento das sementes fino e permeável à água, além do embrião completamente desenvolvido no momento da dispersão (FRANCHI et al., 2011).

Algumas espécies recalcitrantes germinam logo após a dispersão formando um banco de plântulas no sub-bosque da floresta (TWEDDLE et al., 2003), e a rápida transição da maturação para a germinação é a principal estratégia de sementes recalcitrantes, cuja viabilidade é rápida (OBROUCHEVA; SINKEVICH; LITYAGINA, 2016).

Adicionalmente, os resultados obtidos para a germinação e primeira contagem por serem semelhantes podem indicar a necessidade de redução do período estabelecido para a primeira contagem e duração total do teste de germinação. Nesta perspectiva, considerando que a espécie é nativa e muitos dos testes para a análise de sementes não correspondem com

as especificidades da mesma, estudos adicionais podem ser realizados com diferentes lotes de sementes de mangaba visando identificar o período adequado para a espécie.

Os dados referentes ao vigor determinado pelo comprimento da parte aérea e raiz, 5,9 cm e 13,1 cm (manual) e 6,2 cm e 13,9 cm (mecânico), não diferiram estatisticamente para os dois métodos de beneficiamento e corroboram com os dados da primeira contagem indicando maior vigor para estes lotes, considerando que os valores observados neste estudo para o comprimento da parte aérea e raiz, também são superiores aos valores reportados na literatura para mangaba, que corresponderam a 4,96 cm e 8,5 cm (SANTOS et al., 2010). Para a massa seca de plântulas, houve diferença significativa entre os métodos de beneficiamento, sendo a maior massa verificada para as plântulas do beneficiamento mecânico 0,096 mg/plântula enquanto que para o manual foi 0,089 mg/plântula, valores superiores aos observados por Pinto et al. (2014) que variou de 0,04 a 0,05 mg/plântula e semelhantes os obtidos por Barros (2006) para beneficiamento manual e mecânico que correspondeu a 0,1 mg/plântula.

É importante destacar que além dos fatores bióticos, a qualidade e a quantidade de reservas, bem como a morfologia funcional dos cotilédones, exercem influência sobre o estabelecimento, desenvolvimento e sobrevivências das plântulas, e que plântulas maiores e com maior massa são consideradas mais vigorosas e com maior potencial para a sobrevivência em campo (MELO et al., 2004), logo, os métodos de beneficiamento não afetaram o vigor das sementes que produziram plântulas também vigorosas.

Para a condutividade elétrica observou-se diferença significativa entre os dois métodos de beneficiamento, sendo 12,4 $\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$ (manual) e 7,5 $\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$ (mecânico). Estudo semelhante foi realizado testando-se a condutividade em sementes beneficiadas manual e mecanicamente obtendo-se valores de 24,5 $\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$ (manual) e 23,5 $\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$ (despolpadeira) (BARROS et al., 2006). Verificou-se ainda valores de condutividade elétrica para sementes de mangaba variando entre 33,4 a 50,3 $\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$ (BARROS et al., 2010).

De acordo com os resultados obtidos é possível verificar que o beneficiamento manual apresenta alterações nos sistemas de membranas das sementes, contudo, são pequenas e não promoveram redução na viabilidade e no vigor, resultados confirmados pelas porcentagens semelhantes nos dois métodos para a germinação, primeira contagem, comprimento da parte aérea e raiz e massa seca de plântulas.

Os resultados referentes à viabilidade e vigor das sementes de mangaba obtidas pelo beneficiamento manual e mecânico, por serem semelhantes, indicam que os dois métodos permitem a obtenção de sementes capazes de produzirem plântulas normais e vigorosas. Esta informação tem grande relevância uma vez que pode contribuir para o direcionamento de sementes da indústria de polpa de frutas, que são consideradas como resíduos, para a produção de mudas a serem empregadas em plantios de mangabeira.

5.4 Conclusões

Os métodos de beneficiamento utilizados não afetam a germinação das sementes de mangaba.

Os lotes avaliados apresentam sementes vigorosas.

5.5 Referências Bibliográficas

- ABRÀMOFF, M. D.; MAGALHÃES, P. J.; RAM, S. J. Image processing with ImageJ. **Bio photonics international**, v. 11, n. 7, p. 36-42, 2004.
- ALMEIDA, L.; NOGUEIRA, C. A.; BORGES, P. P.; PRADO, A. D. L.; GONCALVES, P. J. State of the art of scientific literature on *Hancornia speciosa*: trends and gaps. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 38, n. 4, e-869, 2016.
- AMARAL, J. B.; MARTINS, L.; FORTI, V. A.; CÍCERO, S. M. Teste de raios x para avaliação do potencial fisiológico de sementes de ipê-roxo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 601-607, 2011.
- BARROS, D. I.; BRUNO, R. D. L. A.; NUNES, H. V.; CABRAL, G. C.; PEREIRA, W. E.; MENDONÇA, R. M. N. Métodos de extração de sementes de mangaba visando à qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 25-27, 2006.
- BARROS, D. I.; BRUNO, R. D. L. A.; NUNES, H. V.; MENDONÇA, R. M. N.; PEREIRA, W. E. Comportamento fisiológico de sementes de mangaba submetidas à dessecação. **Revista ACTA Tecnológica**, Maranhão, v. 5, n. 1, p. 31-43, 2010.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, L. M. Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. **American Journal of Botany**, v. 75, p. 286-305, 1988.
- BESSA, L. A.; SILVA, F. G.; MOREIRA, M. A.; TEODORO, J. P. R.; SOARES, F. A. L. Characterization of nutrient deficiency in *Hancornia speciosa* Gomes seedlings by omitting micronutrients from the nutrient solution. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 616-624, 2013.
- BRANDÃO JÚNIOR, D. S.; RIBEIRO, D.; BERNADINO FILHO, J. R.; VIEIRA, M. Adequação do teste de condutividade elétrica para determinar a qualidade fisiológica de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 7, n. 1/2, p. 184, 1997.
- BRASIL. RAS - **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2009. 399p.
- CORREIA, L. A. S.; MEDEIROS, J. A. D.; SILVA, A. B.; FERRARI, C. S.; PACHECO, M. V. Qualidade fisiológica de sementes de catanduva sob infestação de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Agropecuária Técnica**, Areias, v. 38, n. 2, p. 65-70, 2017.
- DUARTE, E. F.; NAVES, R. V.; BORGES, J. D.; GUIMARÃES, N. N. R. Germinação e vigor de sementes de cagaita (*Eugenia dysenterica* Mart. ex DC.) em função de seu tamanho e tipo de coleta. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36 n. 3, p. 173-179, 2006.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 209-222.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FLORIANO, J. F.; NETO, F. C.; MOTA, L. S. L. S.; FURTADO, E. L.; FERREIRA, R. S.; BARRAVIERA, B. et al. Comparative study of bone tissue accelerated regeneration by latex membranes from *Hevea brasiliensis* and *Hancornia speciosa*. **Biomedical Physics & Engineering Express**, v. 2, p. 045007, 2016.

FRANCHI, G. G.; PIOTTO, B.; NEPI, M.; BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M.; PACINI, E. Pollen and seed desiccation tolerance in relation to degree of developmental arrest, dispersal, and survival. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 5267- 5281, 2011.

GOMES, K. B. P.; MARTINS, R. C. C.; MARTINS, I. S.; GOMES JUNIOR, F. G. Avaliação da morfologia interna de sementes de *Terminalia argentea* (Combretaceae) pelo teste de raios X. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 4, p. 752-759, 2014.

GONÇALVES, L. G. V.; ANDRADE, F. R.; JUNIOR, M.; HUR, B.; SCHOSSLER, T. R.; LENZA, E.; MARIMON, B. S. Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em vegetação natural na região leste de Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 36, n. 1, p. 31-40, 2013.

IGBE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 12 dez. 2017.

INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING - ISTA. **Seed Science and Technology**, Zurich, 333p. Supplement 1999.

INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING. **Seed Science and Technology**. Zurichstr. 50, edition, 2009.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999, cap. 1, p. 1-21.

MARCHI, J. L.; JUNIOR, F. G. G. Use of image analysis techniques to determine the embryo size of *Senna multijuga* (Rich.) seeds and its relation to germination and vigor. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 39, n. 1, p. 013-019, 2017.

MASETTO, T. E.; SCALON, S. P. Q. Drying and Osmotic Conditioning in *Hancornia speciosa* Gomes Seeds. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 62-68, 2014.

MELO, F. P. L.; AGUIAR NETO, A. V.; SIMABUKURO, E. A.; TABARELLI, M. Recrutamento e estabelecimento de plântulas. In: GUI-FERREIRA, A.; BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 209-222.

MENEZES, N. L.; CÍCERO, S. M.; VILLELA, F. A. Identificação de fissuras em sementes de arroz após a secagem artificial, por meio de raios X. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1194-1196, 2005.

MONDO, V. H. V.; CÍCERO, S. M. Análise de imagens na avaliação da qualidade de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 9-18, 2005.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999. p. 2.1-2.24.

NIETSCHE, S.; GONÇALVES, V. D.; PEREIRA, M. C. T.; SANTOS, F. A.; ABREU, S. D.; MOTA, W. F. Tamanho da semente e substratos na germinação e crescimento inicial de mudas de cagaiteira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1321-1325, 2004.

OBROUCHEVA, N.; SINKEVICH, I.; LITYAGINA, S. Physiological aspects of seed recalcitrance: a case study on the tree *Aesculushippo castanum*. **Tree physiology**, v. 38, p. 1127-1150. 2016.

PARSONS, R. F. Incidence and ecology of very fast germination. **Seed Science Research**, v. 22, p. 161-167. 2012.

PEREIRA, A. C.; PEREIRA, A. B. D.; MOREIRA, C. C.; BOTION, L. M.; LEMOS, V. S.; BRAGA, F. C.; CORTES, S. F. *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) as a potential anti-diabetic drug. **Journal of ethnopharmacology**, Lausanne, v. 161, p. 30-35, 2015.

PEREIRA, S. A.; FERREIRA, S. A. do N. FRUIT AND SEED BIOMETRY AND SEEDLING MORPHOLOGY OF *Parkia discolor* (Spruce ex Benth.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 41, n. 2, 2017.

PINTO, R. J.; MAPELI, N. C.; CREMON, C.; SILVA, E. F. Germinação e crescimento inicial de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em função de preparados homeopáticos Carbo vegetabilis e dias após o despolpamento para semeadura. **Revista Agrarian**, Goiânia, v. 7, n. 24, p. 244-250, 2014.

PINTO, T. L. F.; MARCOS FILHO, J.; FORTI, V. A.; CARVALHO, C. D.; GOMES JUNIOR, F. G. Avaliação da viabilidade de sementes de pinhão manso pelos testes de tetrazólio e de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 195-2001, 2009.

SANTOS, P. C. G.; ALVES, E. U.; GUEDES, R. S.; SILVA, K. B.; CARDOSO, E. A.; LIMA, C. R. Qualidade de sementes de *Hancornia speciosa* Gomes em função do tempo de secagem. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 343-352, 2010.

SILVA, L. A.; SALES, J. F.; SANTOS, H. O.; MARTINS, J. M.; COSTA, V. H.; SILVA, F. G. Physiological performance of cagaita seeds (*Eugenia dysenterica* DC.) Subjected to drying. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 1, p. 19-34, 2017.

SILVA, P. P.; FREITAS, R. A.; CÍCERO, S. M.; MARCOS FILHO, J.; NASCIMENTO, W. M. Análise de imagens no estudo morfológico e fisiológico de sementes de abóbora. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 32, p. 210-214, 2014.

SOARES, A. N. R.; MELO, M. F. V.; M. F.; SILVA, A. V. C. Physiological quality of mangaba seeds submitted to drying. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 52, p. 4808-4813, 2015.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; CAMPOS, A. C. A. L.; PORTO, J. M. P.; NOGUEIRA, R. C.; STEIN, V. C. Germinação de sementes de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. S2, p. pg. 1180-1182, 2008.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. D.; SILVA, D. R. G.; PAIVA, P. D. O. Cultura da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Boletim Agropecuário**, Lavras, MG, v. 67, n. 1, 2006.

TWEDDLE, J. C.; DICKIE, J. B.; BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. **Journal of Ecology**, v. 91, p. 294-304, 2003.

VIEIRA NETO, R. D.; SILVA JUNIOR, J. F. da; LEDO, A. da S. Mangaba. In: SANTOS; SEREJO, J. A. dos; DANTAS, J. L. L.; COELHO, C. V. S.; COELHO, Y. S. (Org.). **Fruticultura Tropical espécies regionais e exóticas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 323- 338. 2009.

VIEIRA, M. C.; NAVES, R. V.; SOUZA, E. R. B.; SILVA, G. D.; BELO, A. P. M.; CAMILO, Y. M. V. Emergência de plântulas de mangabeira provenientes de frutos coletados em diferentes localidades do Estado de Goiás. **Comunicata Scientiae**, Piauí, v. 6, n. 1, p. 33-40, 2015.

YOKOMIZO, G. K. I.; SANTOS, I. C.; FREITAS, A. C. Comparação de características produtivas entre progênies de meios irmãos de mangabeiras de populações do Amapá e da Paraíba. **Revista Agro@mbiente On-line**, Roraima, v. 11, n. 1, p. 63-70, 2017.

6. ARTIGO 3

VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Hancornia speciosa* GOMES ARMAZENADAS EM DIFERENTES SOLUÇÕES OSMOCONDICIONANTES

Periódico a ser submetido: Revista Caatinga

RESUMO

O grande desafio é a conservação de recursos genéticos, que exige para a maioria das espécies florestais, ajustes metodológicos visando à manutenção da conservação da viabilidade ao longo do tempo. A dificuldade se amplia para a conservação de sementes recalcitrantes, ou seja, sensíveis à dessecação e ao armazenamento a baixas temperaturas, como é o caso da mangaba. Assim, objetivou-se avaliar a manutenção da viabilidade de sementes de mangaba, após armazenamento em soluções osmocondicionantes. As sementes foram despulpadas manualmente, determinou-se a qualidade inicial e procedeu-se o armazenamento em quatro diferentes soluções osmocondicionantes com potencial de -0,8 MPa (A, B, C e D) pelos períodos de 0, 50, 100, 150 e 200 dias em condições de temperatura e luz controladas. As sementes foram avaliadas quanto à germinação, condutividade elétrica, teor de água e RNA. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em parcelas subdivididas no tempo com 8 repetições de 25 sementes para cada tratamento, e os dados submetidos à análise de variância, regressão e comparação de médias. Verificou-se interação significativa entre os períodos de armazenamento e as soluções testadas para a condutividade elétrica, o mesmo não ocorreu para o teor de água e germinação. Para crescentes períodos de armazenamento ocorre redução da viabilidade e vigor das sementes independente da solução utilizada, entretanto, sementes armazenadas na solução B mantiveram a qualidade e integridade do RNA. Sementes de *H. speciosa* podem ser conservadas por até 50 dias e a solução osmocondicionante B foi eficiente na manutenção da qualidade e integridade do RNA.

Palavras-chave: Conservação, germinação, mangaba.

ABSTRACT**THE SEED VIABILITY OF *Hancornia speciosa* GOMES WHEN STORED IN DIFFERENT OSMOCONDITIONING SOLUTIONS**

The major challenge in the conservation of genetic resources, which is required for most forest species, are methodological adjustments aimed at maintaining the viability of conservation over time. The difficulty of this conservation conundrum extends to the conservation of recalcitrant seeds that are sensitive to desiccation and storage at low temperatures, as in the case of the mangaba species. The objective of this study was to evaluate the maintenance of viability of mangaba seeds after storage in osmoconditioning solutions. The seeds were manually cleansed and their initial quality was determined. Their storage was then carried out in four different osmoconditioning solutions (A, B, C and D) with a potential of -0.8 MPa, for periods of 0, 50, 100, 150 and 200 days, under controlled temperature and light conditions. The seeds were evaluated for their germination, their electrical conductivity, their water content and their RNA. The experimental design was completely randomized in a 5x4 factorial scheme of plots with 8 replicates of 25 seeds for each treatment. The data was submitted to an analysis of variance, regression and a comparison of means. There was a significant interaction between the different storage periods and the solutions were tested for their electrical conductivity; the same interactions did not occur for their water content or their germination. For the increasing periods of storage, the viability and the vigor of the seeds were independent of the solution used. However, the seeds that were stored in solution B maintained their quality and their integrity of the RNA. The seeds of *H. speciosa* Gomes were able to be conserved for up to 50 days. The osmoconditioning solution B was efficient in maintaining their quality and their integrity of the RNA.

Key-words: conservation, germination, mangaba.

6.1 Introdução

Hancornia speciosa Gomes (mangabeira) é uma espécie arbórea nativa do Brasil, o fruto, conhecido como mangaba é uma rica fonte de vitaminas e nutrientes que pode ser consumido *in natura* ou processado e apresenta grande potencial para a agroindústria (LEDERMAN, 2000; SILVA et al., 2017).

A mangabeira é utilizada ainda na medicina popular e estudos científicos recentes mostram que coprodutos importantes com potencial farmacológico podem ser extraídos da planta. No látex, exsudado por toda parte da planta, verificou-se ação anti-inflamatória (MARINHO et al., 2011), angiogênese (ALMEIDA et al., 2014) e ação osteogênica (FLORIANO et al., 2016) e em suas folhas são encontrados compostos bioativos que permitem o controle efetivo da pressão arterial (SILVA et al., 2011) e diabetes (PEREIRA et al., 2015).

Esta espécie ocorre naturalmente em quase todos os estados do Brasil, e sua principal forma de propagação é por sementes, que são recalcitrantes e perdem rapidamente a viabilidade em condições ambiente (SOUZA et al., 2007; MASETTO; SCALON, 2014). Apesar do grande potencial frutífero e farmacológico da mangabeira, seu germoplasma encontra-se bastante ameaçado devido a redução das áreas remanescentes dos ecossistemas, nos quais a espécie ocorre, em virtude da fragmentação florestal, expansão imobiliária e aumento das áreas cultivadas com cana-de-açúcar, coqueiro, pastagens, entre outras atividades (SANTOS et al., 2010).

A crescente devastação da vegetação nativa traz um grande desafio, a conservação dos recursos genéticos, que ocorre por meio de bancos ou coleções de germoplasma. A conservação pode ser no habitat natural (*in situ*), em condições diferentes (*ex situ*) ou ainda a combinação desses métodos (BRASIL, 2000).

Entre as estratégias de conservação *ex situ*, o armazenamento de sementes é uma das mais utilizadas, e quando ocorre de forma adequada permite prolongar a qualidade fisiológica e reduz a velocidade de deterioração da semente (UMARANI; AADHAVAN; FAISAL, 2015). Entretanto, devido às características específicas das sementes de cada espécie, são necessários ajustes metodológicos visando a manutenção da viabilidade ao longo do tempo.

A dificuldade desta conservação se amplia para as sementes recalcitrantes, que são sensíveis à dessecação e ao armazenamento sob baixas temperaturas. Para estas sementes, durante o armazenamento ocorre a redução da qualidade fisiológica, iniciando o processo de deterioração, que envolve uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e físicas ocasionando a perda da viabilidade da semente (UMARANI; AADHAVAN; FAISAL, 2015).

A viabilidade e vigor das sementes recalcitrantes durante o armazenamento só podem ser mantidos em meio hidratado e na temperatura mais baixa que as sementes tolerem, além da necessidade de minimizar a incidência de microrganismos (BERJAK; PAMMENTER, 2008). Salienta-se que o método de armazenamento depende ainda de especificidades da espécie, portanto, não foi desenvolvida uma alternativa eficiente para o armazenamento em longo prazo dessas sementes (WEN, 2009).

Portanto, é necessária a busca de alternativas que contribuam com a conservação e implantação de áreas de produção da espécie. Assim, com o presente trabalho, objetivou-se avaliar a manutenção da viabilidade de sementes de mangaba armazenadas em soluções osmocondicionantes.

6.2 Material e Métodos

Frutos maduros de mangabeira (fruto com casca amarelada a avermelhada, estrias avermelhadas e com textura macia) foram beneficiados manualmente. As sementes obtidas foram lavadas e postas para secar em condição ambiente (25 °C) por 24 horas. Após esse período foi retirada uma alíquota do lote de sementes e procedeu-se com a avaliação da qualidade inicial do lote de sementes por meio da determinação do teor de água,

condutividade elétrica, raios X, germinação, qualidade e integridade do ácido ribonucleico - RNA.

A porção restante de sementes foi subdividida em sachês, contendo 500 sementes. Os sachês foram acondicionados em recipientes de vidro contendo quatro diferentes soluções osmocondicionantes com potencial de -0,8 MPa, sendo A, B (com adição de fungicida natural), C (com adição de fungicida comercial) e D (com adição de fungicida comercial). Em cada recipiente foram postas 2.000 sementes, sendo armazenado um total de 8.000 sementes, mantidas em B.O.D. com temperatura de 10 °C. Aos 50, 100, 150 e 200 dias de armazenamento as sementes foram submetidas às mesmas avaliações para determinação da qualidade inicial com exceção do teste de raios X.

6.2.1 Determinação do teor de água

A determinação do teor de água foi realizada pelo método da estufa a 105 ± 3 °C durante 24 horas, em duplicata de 10 g, de acordo com as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem com base no peso úmido.

6.2.2 Condutividade elétrica

O teste foi realizado com 8 repetições de 25 sementes, pesadas e colocadas em 75 mL de água ultrapura, mantidas em incubadora do tipo B.O.D. a 25 °C por 24 horas. Os valores de condutividade elétrica foram obtidos e expressos em $\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$ (BRANDÃO JUNIOR et al., 1997).

6.2.3 Raios X

Foram empregadas 8 repetições de 25 sementes fixadas em fita adesiva transparente dupla face aderida a uma folha de transparência e submetidas à análise radiográfica para obtenção das imagens. A intensidade de radiação (25 kv) e o tempo de exposição (5 segundos) foram determinados pela calibração automática do equipamento Faxitron X-ray Corp modelo HP MX-20. As imagens radiográficas foram analisadas em equipamento de captura e visualizadas de forma digital. Por meio dessas imagens foram definidas classes de acordo com a morfologia interna das sementes. A interpretação dos resultados foi realizada pela comparação entre a análise das imagens radiográficas das sementes e os resultados de germinação (BRASIL, 2009).

6.2.4 Germinação

No teste de germinação as 8 repetições de 25 sementes foram distribuídas em rolo de papel tipo germitest, umedecido com 2,5 vezes o peso seco dos papéis em água destilada e mantidas em incubadora do tipo B.O.D. a 25 °C, com fotoperíodo de 12h. No vigésimo quinto dia realizou-se a primeira contagem e a última aos trinta e cinco dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

6.2.5 Comprimento de plântulas

Na determinação do comprimento de plântulas, efetuou-se a medida das partes (raiz primária e hipocótilo) de 8 repetições de 15 plântulas normais obtidas da primeira contagem de germinação, utilizando-se uma régua centimétrica. Os resultados médios por plântulas foram expressos em centímetros.

6.2.6 Massa seca de plântulas

As plântulas normais obtidas no teste de germinação foram acondicionadas em sacos de papel identificados e levadas à estufa com circulação de ar forçada, com temperatura de 80 °C por um período de 24 horas (NAKAGAWA, 1999). Após este período, verificou-se a massa em balança com precisão de 0,001 g, o valor obtido foi dividido pelo número de plântulas utilizadas obtendo-se os dados em mg/plântula (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999).

6.2.7 Extração de RNA e avaliação da integridade do RNA

O RNA foi extraído de embriões de sementes de mangaba antes do armazenamento e após serem armazenadas em soluções osmocondicionantes por diferentes períodos usando o kit comercial Nucleospin® RNA II (Macherey-Nagel), de acordo com as instruções do fabricante. Para o controle, foram utilizadas sementes que não haviam sido armazenadas. A integridade, qualidade e quantidade de RNA extraído foram avaliadas por meio de nanospectrofotometria a 260, 230 e 280 nm. Para avaliar a integridade do RNA, 1 µg de RNA das sementes não armazenadas (QI) e das sementes armazenadas pelo período de 50 dias, foi submetido a eletroforese em gel de poliacrilamida a 1,0%, corado com prata e visualizado em transiluminador de luz branca.

6.2.8 Delineamento e análise estatística

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, sendo 4 parcelas soluções osmocondicionantes: A, B, C e D e 4 subparcelas períodos de armazenamento: 50, 100, 150 e 200 dias. As variáveis analisadas foram testadas quanto à distribuição normal de acordo com o teste de Shapiro-Wilk, quando necessário os resultados foram transformados de acordo com o tipo de variável utilizada. Os dados foram submetidos à análise de variância por meio do teste F, regressão e comparação de médias (Tukey) ao nível de 5% de probabilidade.

6.3 Resultados e Discussão

6.3.1 Qualidade inicial

Para a avaliação da qualidade inicial das sementes de mangaba, obteve-se teor de água de 55,6% e 78% de germinação, o comprimento da parte aérea, raiz e a massa seca de plântulas foram 5,92 cm, 10,26 cm e 89,259 mg/plântula, respectivamente. A condutividade elétrica correspondeu a 10,0 µS/cm g⁻¹ e a avaliação da integridade física das sementes pelo teste de raios X, permitiu a classificação das sementes em cheias (88%), sementes bem formadas e que não apresentaram espaços vazios e com danos (12%) aquelas que apresentam alterações na formação das estruturas internas ou espaços vazios (FIGURA 6.1).

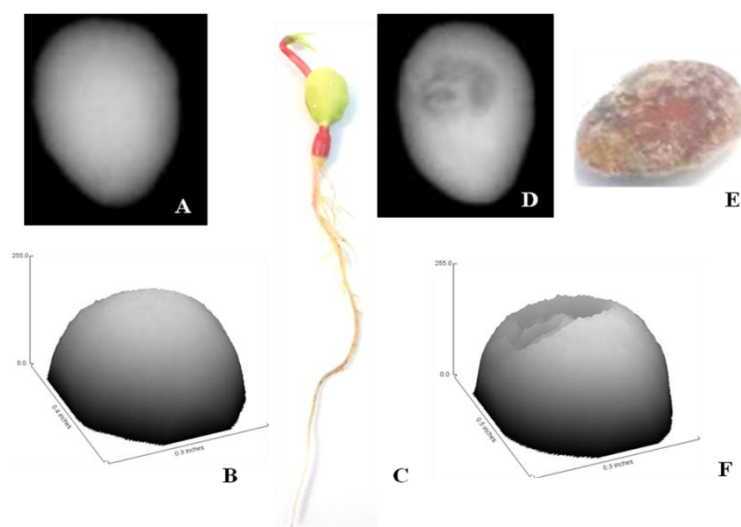


FIGURA 6.1 Radiografia de semente cheia (A), imagem 3D (B); plântula normal (C), radiografia de semente com dano (D), semente deteriorada (E) e imagem 3D (F) de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes).

A concentração do RNA obtido a partir de embriões das sementes foi de 55,5 ng/μL e para a qualidade obtida pela relação de A260/280 verificou-se 1,457. Apesar destas informações não serem obtidas por meio de um método de avaliação da qualidade de sementes, podem ser utilizadas como um indicativo de que as sementes estão viáveis uma vez que o RNA é uma molécula sensível às alterações que ocorrem nas sementes quando estão em processo de deterioração.

Salienta-se que a qualidade das sementes está associada a atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, essas informações são determinantes para a tomada de decisão na escolha do lote a ser conservado no armazenamento e/ou utilizado na produção de mudas, nesta perspectiva, considerando os resultados obtidos, o lote apresenta potencial para o armazenamento.

6.3.2 Armazenamento

Para as sementes armazenadas, foi verificado o efeito entre as soluções osmocondicionantes e os períodos de armazenamento para a condutividade elétrica, o comprimento da raiz e massa seca de plântulas, o mesmo não ocorreu para o teor de água, comprimento da parte aérea e o percentual de germinação. Nestas últimas variáveis foi verificado o efeito para o tempo (TABELA 6.1).

TABELA 6.1 Resumo da Análise de Variância (ANAVA) para a avaliação do teor de água (TA), condutividade elétrica (CE), germinação (%G), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca de plântulas (MSP) de sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) armazenadas por diferentes períodos em soluções osmocondicionantes.

FV	GL	TA (%)	G (%)	CPA (cm)	CR (cm)	MSP (g)	CE (μS/cm g ⁻¹)
Solução	3	68,89 ^{ns}	0,038 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,19 ^{ns}	7,27 ^{ns}	137,09 ^{ns}
Tempo	3	8,44 ^{ns}	4,05*	12,59*	27,01*	538,01*	3754,79*
S*T	9	12,14 ^{ns}	0,009 ^{ns}	0,20*	0,27 ^{ns}	7,09*	64,13*
Média		57,71	14,44	1,52	1,77	34,38	23,05
CV 1 (%)		6,03	72,91	37,08	24,86	59,75	23,05
CV 2 (%)		4,79	27,08	13,26	20,48	30,15	6,74

* Significativo e ns - não significativo a 5% (p<0,05).

Para o teor de água das sementes não houve efeito das diferentes soluções osmocondicionantes durante o período de armazenamento e as soluções foram capazes de manter o teor de umidade acima de 50% para todos os períodos de armazenamento, sendo Solução A (59,66%), B (53,32%), C (59,19%) e D (58,67%). O alto teor de água observado é característico das sementes recalcitrantes, pois não sofrem secagem na planta mãe e são liberadas para o ambiente com alto teor de água (ROBERTS, 1973).

A manutenção do teor de água nas sementes durante o armazenamento é uma das condições necessárias para que permaneçam viáveis, pois reduz a possibilidade de danos físicos na semente decorrentes da desidratação. Esse dano refere-se a alterações na estrutura dos vacúolos que são proeminentes nas sementes recalcitrantes, ao citoesqueleto e as membranas celulares, ocasionando a falta de suporte intracelular e organização estrutural que culminam na perda de viabilidade das sementes (FARRANT et al., 1992; FARRANT et al., 1997).

No armazenamento de sementes de pitombeira (*Talisia esculenta* (A. St. Hil)), de comportamento recalcitrante assim como as de mangaba, verificou-se redução no teor de água de 40 a 24% no 15º dia do armazenamento, ocasionando redução da taxa de germinação (SENA et al., 2016).

O menor teor de água que mantém a viabilidade das sementes recalcitrantes varia muito em função das espécies, a exemplo para *Theobroma cacao* que o menor teor de água seguro corresponde a 23%, enquanto que para *Avicennia marina* é de 61,5% (MUMFORD; BRETT 1982; FARRANT et al., 1996). Para sementes de mangaba teor de água correspondente a 43% não prejudica a germinação, enquanto que para teor de água de 38% ocorre decréscimo gradativo da germinação (SANTOS et al., 2010).

Mesmo com a manutenção do teor de água nas sementes, o aumento do período de armazenamento ocasionou redução do percentual de germinação independente da solução osmocondicionante utilizada, ocorrendo um decréscimo na germinação de 37% aos 50 dias e 86% para 100 dias quando comparado com a germinação obtida para a qualidade inicial. A partir de 130 dias não foi possível a manutenção da viabilidade das sementes (FIGURA 6.2).

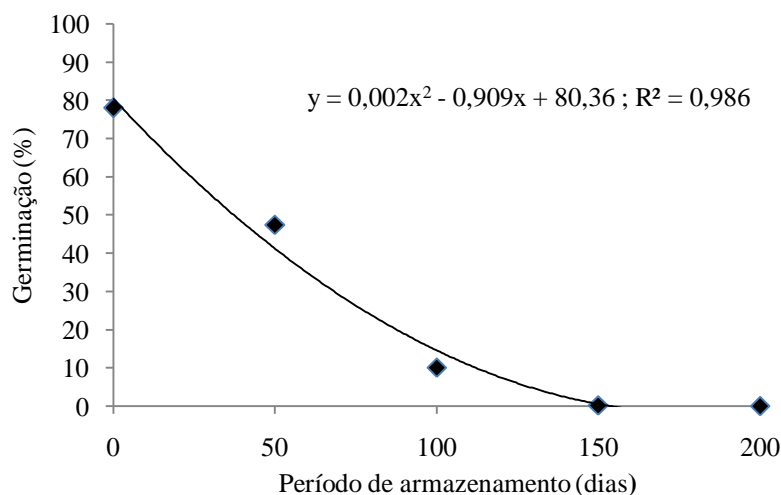


FIGURA 6.2 Germinação de sementes de mangaba (*Hancornia speciosa*) armazenadas por diferentes períodos.

No período de 100 dias foi observada a presença de microrganismos nas sementes de mangaba, o que ocasionou redução da qualidade. Aos 150 e 200 dias a incidência de fungos foi acentuada, resultando na morte de todas as sementes. Cabe salientar que as soluções C e D continham em sua formulação fungicidas comerciais nas doses recomendadas.

O percentual de germinação para sementes recalcitrantes armazenadas varia em função da espécie, que podem apresentar 5% no 10º dia conforme verificado para *Aquilaria*

malaccensis Lamk (TABIN; SHRIVASTAVA, 2015), 99% para *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. no 18º dia (CHARLOQ et al., 2016) e 64% aos 180 dias de armazenamento para *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (GARCIA et al., 2014). Para sementes de mangaba, Freitas (2016) obteve 81 e 18% para o armazenamento durante 60 e 90 dias, valores semelhantes aos obtidos neste estudo.

O decréscimo da germinação em função dos períodos de armazenamento é resultante da alta incidência de fungos que aceleram os processos deteriorativos decorrente dos danos que afetam estas sementes durante o armazenamento, principalmente metabólicos, devido à alta taxa respiratória e do metabolismo. Fatores macro e micromoleculares podem ocorrer durante o armazenamento e afetam a viabilidade das sementes (PAMMENTER; BERJAK, 2000).

Outro agravante que pode contribuir para que processos deteriorativos e oxidativos ocorram nas sementes de mangaba, é a presença de maior teor de lipídeos na sua composição química (teor de óleo $27,33 \pm 0,37\%$, proteínas $12,10 \pm 1,60\%$, fibras $11,98 \pm 0,46\%$, celulose 17,07, hemicelulose 22,57 e lignina 10,16%), considerando que estes apresentam maior instabilidade química e podem ocasionar deterioração mais rápida do que para as sementes amiláceas ou protéicas, por meio das reações hidrolíticas formando o hiperóxido (SANTOS et al., 2015; HARRINGTON, 1972).

A alta taxa metabólica leva a atividade descontrolada de radicais livres, geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a peroxidação lipídica, resultando em danos à membrana e a geração de subprodutos tóxicos e dano oxidativo ao DNA, situação que se agrava devido a falha do sistema de reparação nas células culminado na perda da viabilidade das sementes (FINCH-SAVAGE; PRAMANIK; BEWLEY, 1994; MCDONALD, 1999; VARGHESE et al., 2011).

Para o comprimento da parte aérea, raiz e a massa seca de plântulas, verificou-se que as sementes armazenadas nas soluções B e C apresentaram os maiores valores quando armazenadas no período de 100 dias, enquanto que aquelas armazenadas nas soluções A e D apresentaram plântulas menores e com menor massa. Nos demais períodos de armazenamento não houve diferenças entre as soluções osmocondicionantes (TABELA 6.2).

TABELA 6.2 Desdobramento da solução dentro dos diferentes períodos de armazenamento para as variáveis comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR) e massa seca de plântulas (MSP).

Período de armazenamento (dias)	Soluções osmocondicionantes -0,8MPa			
	A	B	C	D
Comprimento da parte aérea (cm)				
50	4,43 ab	5,22 a	3,88 ab	2,92 b
100	1,78 b	3,08 a	3,60 a	1,95 b
150	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
200	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Comprimento da raiz (cm)				
50	7,77 a	7,60 a	6,17 a	6,58 a
100	3,13 b	5,49 a	5,80 a	3,96 b
150	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
200	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Massa seca de plântulas (mg/plântula)				
50	78,18 a	75,00 a	77,69 a	73,36 a
100	45,00 b	80,75 a	77,00 a	43,25 b
150	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
200	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a

Médias seguidas pelas mesmas letras minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade.

Estes resultados indicam que é possível armazenar as sementes de mangaba, contudo, haverá redução no vigor destas sementes durante o armazenamento, sendo que no período de 50 dias foram observados os valores mais próximos daqueles obtidos para a qualidade inicial em todas as soluções e aos 100 dias as soluções B e C possibilitaram a formação de plântulas mais vigorosas (FIGURA 6.3).

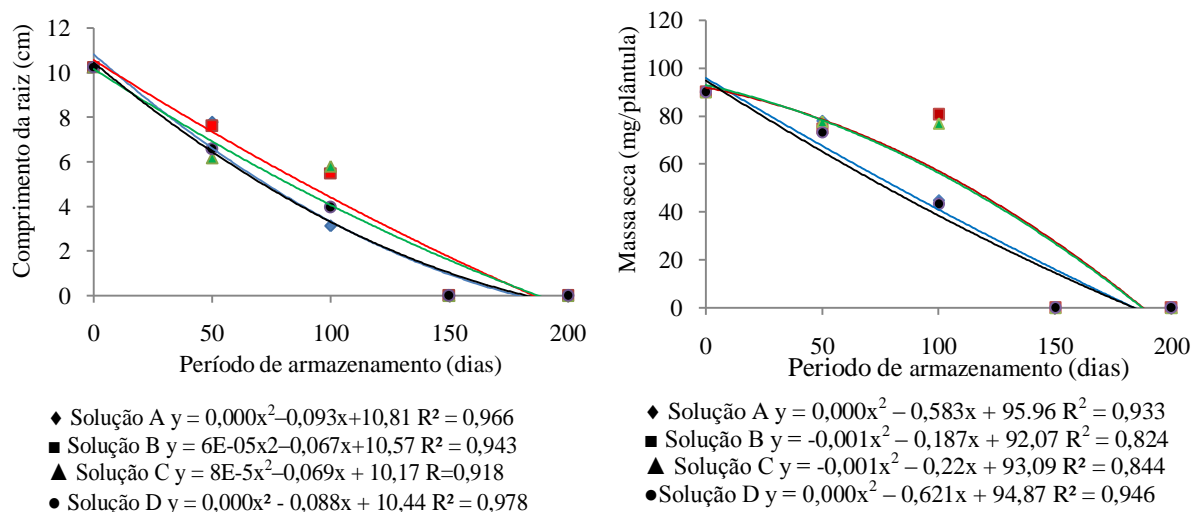


FIGURA 6.3 Comprimento da raiz (CR) e massa seca (MS) das sementes armazenadas em diferentes soluções osmocondicionantes e períodos de tempo.

O vigor das sementes pode ser entendido como a junção das propriedades que determinam o nível potencial de atividade e desempenho de uma semente ou de um lote (ISTA, 1981), sendo influenciado dentre outros, por fatores genéticos intrínsecos a sementes, condições ambientais durante a formação de sementes, danos mecânicos, micro-organismos, insetos e condições ambientais durante o armazenamento, nesse último, a umidade e a temperatura são os aspectos mais relevantes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Assim, considerando que o teor de umidade das sementes controla os diferentes processos metabólicos e a temperatura afeta a velocidade dos processos bioquímicos, a redução do vigor das sementes armazenadas verificada neste estudo, pode estar associada com sua alta atividade metabólica e taxa respiratória que leva a um consumo considerável de material de reserva e decréscimo da energia da semente, que apesar de se encontrarem em baixa temperatura, foi agravado pela presença de micro-organismos.

Para a avaliação da condutividade elétrica em diferentes soluções osmocondicionantes em função dos períodos de armazenamento, verificou-se que no período de 50 dias os maiores valores de condutividade foram observados para sementes das soluções A e D e aos 200 dias na solução A (TABELA 6.3).

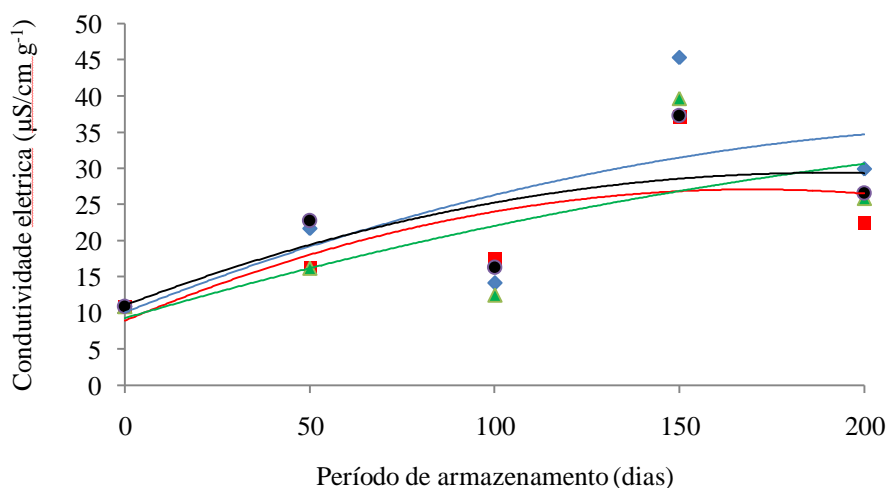
TABELA 6.3 Desdobramento da solução dentro dos diferentes períodos de armazenamento para a condutividade elétrica (CE).

Período de armazenamento (dias)	Soluções osmocondicionantes -0,8MPa			
	A	B	C	D
Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$)				
50	21,68 a	16,32 b	16,21 b	22,73 a
100	14,14 ab	17,59 a	12,42 b	16,30 ab
150	45,29 a	37,10 b	39,67 b	37,24 b
200	29,87 a	22,43 b	25,83 ab	26,53 ab

Médias seguidas pelas mesmas letras minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade.

As soluções B e C aos 50 dias apresentaram os menores valores para a condutividade elétrica, indicando menor deterioração das sementes armazenadas nestas soluções, uma vez que a condutividade elétrica está associada a presença de exsudados na solução, sendo verificada maior quantidade quando as sementes apresentam maior grau de deterioração. Os valores para a condutividade são semelhantes aos obtidos por Freitas (2016) para o armazenamento de sementes de mangaba, com condutividade elétrica de $17,74 \mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$ para 60 dias de armazenamento.

Analizando a condutividade elétrica das sementes armazenadas nos diferentes períodos e soluções osmocondicionantes, verifica-se resposta quadrática em função dos crescentes períodos de armazenamento (FIGURA 6.4).



◆ Solução A $y = -0,000x^2 + 0,201x + 10,08$ $R^2 = 0,515$; ■ Solução B $y = -0,000x^2 + 0,213x + 8,939$ $R^2 = 0,572$;
 ▲ Solução C $y = -0,000x^2 + 0,148x + 9,278$ $R^2 = 0,572$; ● Solução D $y = -0,000x^2 + 0,193x + 11,02$ $R^2 = 0,572$;

FIGURA 6.4 Condutividade elétrica das sementes armazenadas em diferentes soluções osmocondicionantes e períodos de tempo.

No período de 50 dias, foram observados valores da condutividade elétrica variando de 16,21 (Solução C) a 22,7 $\mu\text{S}/\text{cm g}^{-1}$ (Solução D), sendo as soluções B e C aquelas com valores mais próximos dos obtidos para a qualidade inicial, indicando a manutenção da integridade das membranas e manutenção da viabilidade das sementes, que no teste de germinação formaram plântulas com a parte aérea variado de 2,92 (Solução D) a 5,22 cm (Solução B) e comprimento de raiz variando entre 6,17 (Solução A) e 7,77 cm (solução C).

Conforme se ampliou o período de armazenamento ocorreu o aumento da condutividade elétrica. Esse aumento é verificado pela maior liberação de exsudados das sementes caracterizando o início do processo de deterioração pela desestruturação do sistema de membranas celulares culminando na redução da viabilidade (SANTOS et al., 2005), o que corrobora com os resultados obtidos para a germinação, comprimento da parte aérea, comprimento da raiz e massa seca de plântulas, que reduziram conforme aumentaram os períodos de armazenamento.

Percebe-se que mesmo não prolongando o período de armazenamento, quando comparada com as outras soluções, as soluções osmocondicionantes B e C apresentaram os menores valores de condutividade elétrica e plântulas maiores e mais pesadas, sendo promissoras para o armazenamento de sementes de mangaba, embora em períodos curtos quando comparados com sementes ortodoxas, são suficientes para não exigir a semeadura de todo o lote de sementes imediatamente após sua colheita e, portanto, uma opção para conservação das sementes.

6.3.3 Qualidade e integridade do RNA

Para as sementes armazenadas em todas as soluções osmocondicionantes foi verificada redução da concentração do RNA conforme ampliou-se o período de armazenamento (FIGURA 6.5). Essa redução está associada aos danos mecânicos, metabólicos e macromoleculares que as sementes sofreram durante o armazenamento, que culminaram na perda da viabilidade das mesmas.

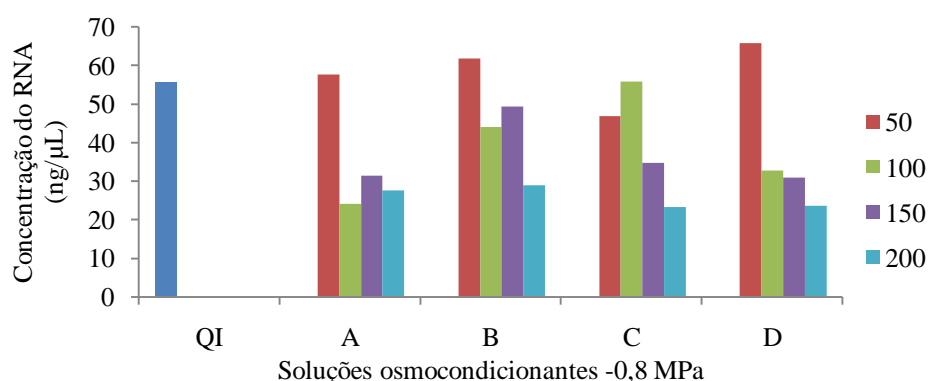


FIGURA 6.5 Concentração do RNA de sementes de *Hancornia speciosa* Gomes antes do armazenamento (QI) e quando armazenadas em diferentes soluções osmocondicionantes (A, B, C e D) e períodos (50, 100, 150 e 200 dias).

A redução da concentração do RNA corrobora com os resultados obtidos para a germinação, comprimento da parte aérea e raiz e massa seca de plântulas, que também decresceram conforme os períodos de armazenamento foram aumentando. Verifica-se ainda maior concentração de RNA no período de 50 dias. Ressalta-se que para esse período foram observadas plântulas maiores e mais vigorosas para todas as soluções.

Considerando que o RNA é uma molécula sensível ao processo oxidativo desencadeado quando as sementes estão sob estresse, a avaliação da integridade e qualidade do RNA nas sementes armazenadas pode contribuir para identificar o nível de dano que ocorreu nas sementes.

Para a qualidade do RNA, verificada por meio da razão 260/280, a solução B permitiu a manutenção da qualidade durante todo o período de armazenamento, enquanto que para as soluções A e D verificou-se redução a partir do período de 100 dias, e para a solução C essa redução foi observada a partir de 150 dias (FIGURA 6.6).

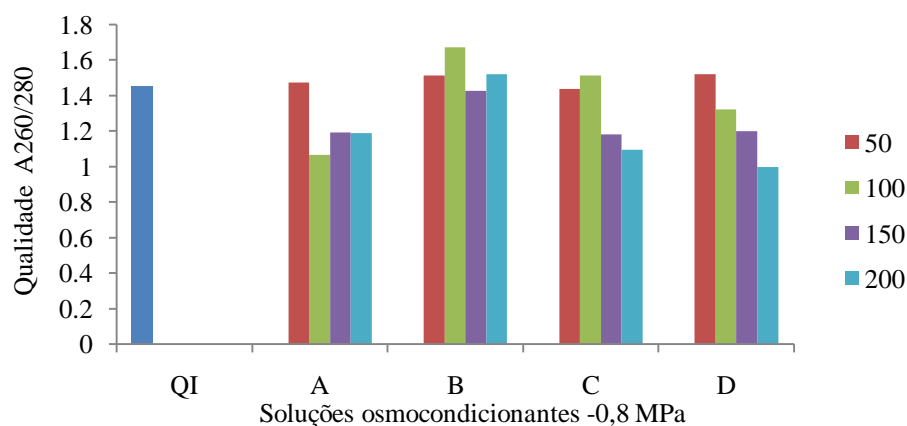


FIGURA 6.6 Qualidade do RNA de sementes de *Hancornia speciosa* Gomes antes do armazenamento (QI) e quando armazenadas em diferentes soluções osmocondicionantes (A, B, C e D) e períodos (50, 100, 150 e 200 dias).

As informações obtidas para a qualidade do RNA estão em acordo com as verificadas para as análises anteriores, visto que indicam redução da qualidade do RNA em função dos crescentes períodos de armazenamento. Para as soluções B e C nos períodos de 50 e 100 dias verificou-se maior qualidade do RNA e também menores valores de condutividade elétrica, cabe destacar que houve germinação apenas para estes períodos.

Quanto ao gel de integridade, verificou-se que tanto as sementes que não foram armazenadas quanto aquelas armazenadas por 50 dias, independente da solução de armazenamento, apresentaram as bandas de 18 e 28s, indicando a presença de RNA não degradado no material (FIGURA 6.7).

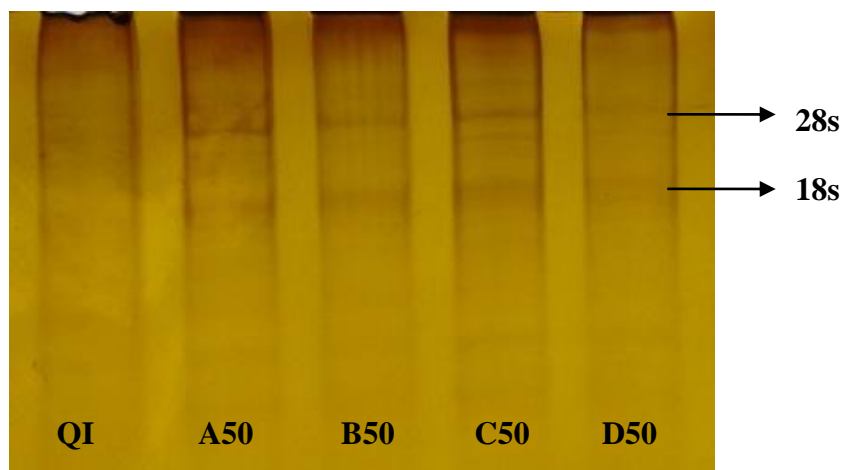


FIGURA 6.7 Gel de integridade do RNA de sementes de *Hancornia speciosa* Gomes antes do armazenamento (QI) e quando armazenadas em diferentes soluções osmocondicionantes (A, B, C e D) por 50 dias.

Os danos em nível molecular ocorreram em menores proporções, entretanto, os demais tipos de danos foram suficientes para comprometer a viabilidade das sementes, sendo importante buscar estratégias para minimizá-los visando otimizar o período de armazenamento. Cabe destacar que a presença de RNA nas sementes é normalmente estudada durante a germinação, contudo, especificamente para as sementes de mangaba, foi possível estabelecer uma relação com a viabilidade das sementes durante o armazenamento.

6.4 Conclusões

Sementes de *H. speciosa* podem ser conservadas por 50 dias.

A solução B possibilitou maior percentual médio de germinação e manutenção da integridade e qualidade do RNA.

6.5 Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, L. M.; FLORIANO, J. F.; RIBEIRO, T. P.; MAGNO, L. N.; MOTA, L. S. L. D. da; PEIXOTO, N. et al. *Hancornia speciosa* latex for biomedical applications: physical and chemical properties, biocompatibility assessment and angiogenic activity. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, p. 2153-2162, 2014.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. From *Avicennia* to *Zizania*: seed recalcitrance in perspective. **Annals of Botany**, v. 101, n. 2, p. 213-228, 2008.
- BRANDÃO JÚNIOR, D. S., RIBEIRO, D., BERNADINO FILHO, J. R., & VIEIRA, M. Adequação do teste de condutividade elétrica para determinar a qualidade fisiológica de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 7, n. 1/2, p. 184, 1997.
- BRASIL. **Convenção sobre Diversidade Biológica**: Conferência para Adoção do Texto Acordado da CDB – Ato Final de Nairobi. Brasília: MMA/SBF, 2000. 60p. (Biodiversidade, 2).
- BRASIL. RAS - **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2009. 399p.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. FUNEP: Jaboticabal, 2012. 590p.
- CHARLOQ, Z. L.; SIREGAR, T. H.; DAMANIK, S. B.; YAZID, A.; HUSNI, M. Physiology Changes of Shelled Rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) Seed after 16 days storage with PEG 6000 30% coating to induce secondary dormancy. **Journal of Agronomy**, v. 15, p. 11-18, 2016.
- FARRANT, J. M., PAMMENTER, N. W., BERJAK, P.; WALTERS, C. Subcellular organization and metabolic activity during the development of seeds that attain different levels of desiccation tolerance. **Seed Science Research**, v. 7, p. 135-144, 1997.
- FARRANT, J. M., PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Development of the recalcitrant (homoiohydrous) seeds of *Avicennia marina*: anatomical, ultrastructural and biochemical events associated with development from histodifferentiation to maturation. **Annals Botany**, v. 70, p. 75-86, 1992.
- FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; FARNSWORTH, E. J.; VERTUCCI, C. W. Presence of dehydrin-like proteins and levels of abscisic acid in recalcitrant (desiccation sensitive) seeds may be related to habitat. **Seed Science Research**, v. 6, p. 175-182, 1996.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FINCH-SAVAGE, W. E., PRAMANIK, S. K. AND BEWLEY, J. D., The expression of dehydrin proteins in desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of temperate trees. **Planta**, v. 193, p. 478-485, 1994.
- FLORIANO, J. F.; NETO, F. C.; MOTA, L. S. L. S.; FURTADO, E. L.; FERREIRA, R. S.; BARRAVIERA, B. et al. Comparative study of bone tissue accelerated regeneration by latex

membranes from *Hevea brasiliensis* and *Hancornia speciosa*. **Biomedical Physics & Engineering Express**, v. 2, p. 045007, 2016.

FREITAS, B. A. L. de. **Conhecimento local, diversidade morfogénica como subsídios para conservação da mangaba**. 2016. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2016.

GARCIA, C.; COELHO, C. M. M.; MARASCHIN, M.; OLIVEIRA, L. M. de . Conservação da viabilidade e vigor de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze durante o armazenamento. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 4, p. 857-867, 2014.

HARRINGTON, J. F. Seed storage longevity. In: **Seed Biology**, v. 3, ed. KOZLOWSKI, T. T. (New York: Academic Press), p. 145-245, 1972.

LEDERMAN, I. et al. **Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Jaboticabal: Funep, 2000, 35p.

MARINHO, D. G.; ALVIANO, D. S.; MATHEUS, M. E.; ALVIANO, C. S.; FERNANDES, P. D. The latex obtained from *Hancornia speciosa* Gomes possesses anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, p. 530-537, 2011.

MASETTO, T. E.; SCALON, S. P. Q. Drying and Osmotic Conditioning in *Hancornia speciosa* Gomes Seeds. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 62-68, 2014.

MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, v. 27, p. 177-237, 1999.

MUMFORD, P.M.; BRETT, A. C. Conservation of cacao seed. **Tropical Agriculture** Trinidad, v. 59, p. 306-310, 1982.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANCA NETO, J. B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999. p. 2.1-2.24.

PEREIRA, A.C. et al. *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) as potential anti-diabetic drug. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 161, p. 30-35, 2015.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 3, p. 499-514, 1973.

SANTOS, P. C. G.; ALVES, E. U.; GUEDES, R. S.; SILVA, K. B.; ALMEIDA CARDOSO, E.; LIMA, C. R. Quality of *Hancornia speciosa* Gomes seeds in function of drying periods. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 343-352, 2010.

SANTOS, R. M.; SANTOS, A. O.; SUSSUCHI, E. M.; NASCIMENTO, J. S.; LIMA, Á. S.; FREITAS, L. S. Pyrolysis of mangaba seed: Production and characterization of bio-oil. **Bioresource Technology**, v. 196, p. 43-48, 2015.

SANTOS, S. R. G.; PAULA, R. C. Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Bail.) Smith e Downs (branquilho) - Euphorbiaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 136-145, 2005.

- SENA, L. H. de M.; MATOS, V. P.; MEDEIROS, J. É. D.; SANTOS, H. H. D.; ROCHA, A. P.; FERREIRA, R. L. C. Storage of pitombeira seeds [*Talisia esculenta* (A. St. hil) Radlk - Sapindaceae] in different environments and packagings. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 40, n. 3, p. 435-445, 2016.
- SILVA, A. V. C. D.; AMORIM, J. A. E.; VITÓRIA, M. F. D.; LEDO, A. D. S.; RABBANI, A. R. C. Characterization of trees, fruits and genetic diversity in natural populations of mangaba. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 41, n. 3, p. 255-262, 2017.
- SILVA, A. V. C.; SANTOS, A. R.; WICKERT, E.; SILVA JÚNIOR, J. F.; COSTAR, T. S. Divergência genética entre acessos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 4, p. 572-578, 2011.
- SOUSA, C. S.; SILVA, S. A.; ALMEIDA, W. A. B.; DANTAS, A. C. V. L.; MOREIRA, R. F. C.; COSTA, M. A. P. C.; CAPINAN, G. C. S. Descrição botânica e correlações entre caracteres relacionados a folhas e frutos de mangabeiras nativas da Bahia. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 19, n. 4, p. 386-392, 2007.
- TABIN, T.; SHRIVASTAVA, K.; SHUKLA, A. K. Distribution and diversity of AM fungi in the rhizospheric soils of naturally and artificially growing *Aquilaria malaccensis* Lamk. Trees in arunachal Pradesh and Assam states of eorth east India. **Indian Journal of Hill Farming**, Umiam, v. 27, n. 2, p. 38-40, 2014.
- UMARANI, R.; AADHAVAN, E. K.; FAISAL, M. M. Understanding poor storage potential of recalcitrant seeds. **Current Science**, v. 108, p. 2023-2034, 2015.
- VARGHESE, B.; BERJAK, P.; VARGHESE, D.; PAMMENTER, N. W. Differential drying rates of recalcitrant *Trichilia dregeana* embryonic axes: a study of survival and oxidative stress metabolism. **Plant Physiology**, v. 142, p. 326-338, 2011.
- WEN, B. Storage of recalcitrant seeds: a case study of the Chinese fan palm, *Livistona chinensis*. **Seed Science and Technology**, v. 37, p. 167-179, 2009.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da grande potencialidade da mangabeira e da sua importância social para as comunidades extrativistas, existem várias questões sobre a espécie que merecem atenção, entre elas, a caracterização das populações naturais que são fonte de toda a variabilidade e que pode contribuir para a identificação e inserção de importantes recursos genéticos em programas de conservação e melhoramento. A necessidade do estabelecimento de plantios de mangabeira visando atender à crescente demanda dos frutos e coprodutos, e, a redução das áreas de ocorrência natural da espécie, sendo necessário ampliar as estratégias de conservação.

Nesta perspectiva, no primeiro capítulo, alinhando marcadores moleculares e morfológicos foi possível caracterizar matrizes de uma população natural de mangabeira e identificar sua diversidade morfogenética, bem como o potencial para uso em estudos de conservação e melhoramento genético. Salienta-se que a identificação dessa variabilidade é primordial para a definição de estratégias de conservação, recuperação de áreas degradadas e enriquecimento de populações naturais, além do melhoramento.

Considerando a diversidade morfogenética das matrizes, suas sementes podem ser empregadas na produção de novas mudas, visando o enriquecimento das áreas de ocorrência de espécie, uma vez que essas áreas foram reduzidas em função do desmatamento, fragmentação florestal, implantação de culturas agrícolas e especulação imobiliária.

Diante da redução das áreas e de populações naturais de mangabeira, é eminente o risco do estreitamento da base genética e da endogamia, esta última, pode levar a inserção de alelos deletérios na população e em seu nível mais crítico, ocasionar a extinção da mesma. Dessa maneira, é necessário ampliar as estratégias de conservação da mangabeira que atualmente ocorre principalmente por meio de bancos de germoplasma ou a manutenção de coleções *in situ*, assim, as soluções osmocondicionantes avaliadas no terceiro capítulo podem ser empregadas para a conservação de sementes de mangaba.

Outro aspecto importante que pode favorecer a conservação da espécie, verificado no terceiro capítulo, trata-se do sucesso na extração do RNA (ácido ribonucleico), que além de contribuir para a identificação da proporção dos danos macromoleculares que ocorreram durante o armazenamento, por meio da avaliação da integridade e qualidade do RNA das sementes, é primordial para o estudo da expressão gênica.

Frente ao cenário atual de redução das áreas naturais de mangabeiras, obtenção de frutos praticamente por atividade extrativista em plantas remanescentes, bem como a crescente demanda por essa fruta e seus coprodutos, é necessário o estabelecimento de plantios comerciais.

Cabe destacar que a principal forma de propagação da espécie é por sementes, que são recalcitrantes e perdem rapidamente a viabilidade em condição ambiente, sendo importante conhecer a qualidade fisiológica e integridade física visando utilizá-las como fontes de propágulos. Assim, sementes obtidas da indústria de polpa de frutas, que normalmente são descartadas, podem ser utilizadas para a produção de mudas a serem empregadas no estabelecimento de plantios de mangabeira, conforme os resultados apresentados no segundo capítulo desse estudo. Essas sementes apresentam também potencial para serem armazenadas nas soluções osmocondicionantes.

Diante das lacunas do conhecimento da mangabeira, a continuidade dos estudos desenvolvidos nesse trabalho pode contribuir para preenchê-las, assim, considerando que a espécie apresenta sazonalidade na produção de frutos, estudos adicionais podem ser desenvolvidos visando caracterizar frutos e sementes das duas épocas de frutificação que ocorrem no estado de Sergipe, no verão de dezembro a abril e inverno de maio a julho, a fim de identificar as possíveis mudanças das características biométricas em função das diferentes épocas de frutificação, ou seja, a variabilidade fenotípica. Esta informação aliada com a

herdabilidade das características avaliadas, tem grande relevância na identificação de matrizes mais produtivas a serem utilizadas em futuros testes de progênies.

As sementes obtidas para as duas épocas de frutificação podem ser avaliadas quanto ao potencial na produção de novas mudas, visando o enriquecimento das áreas de ocorrência de espécie, bem como para o armazenamento em soluções osmocondicionantes. Devido à característica de recalcitrância das sementes, são necessárias pesquisas visando à compreensão dos danos que ocorrem durante o armazenamento, sobre a otimização das soluções e expressão gênica visando à identificação de genes associados à tolerância a dessecação, bem como ao armazenamento em baixas temperaturas a fim de ampliar o período de conservação desse importante recurso genético.